



TUGAS AKHIR - RE 141581

# UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM PENYISIHAN LOGAM KROMIUM PADA TANAH TERCEMAR KROMIUM

TESYA PARAMITA PUTRI  
3313100054

Dosen Pembimbing  
Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD

JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN  
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2017



TUGAS AKHIR - RE 141581

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Bacillus subtilis*  
DALAM PENYISIHAN LOGAM KROMIUM PADA  
TANAH TERCEMAR KROMIUM**

**TESYA PARAMITA PUTRI  
3313100054**

**Dosen Pembimbing  
Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD**

**JURUSAN TEKNIK LINGKUNGAN  
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya 2017**



**FINAL PROJECT - RE 141581**

**THE ABILITY TEST OF *Bacillus subtilis* TO  
REMOVE CHROMIUM IN CHROMIUM  
CONTAMINATED SOIL**

**TESYA PARAMITA PUTRI  
3313100054**

**SUPERVISOR  
Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD**

**DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING  
Faculty of Civil Engineering and Planning  
Institut of Technology Sepuluh Nopember  
Surabaya 2017**

## LEMBAR PENGESAHAN

### UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM PENYISIHAN LOGAM KROMIUM PADA TANAH TERCEMAR KROMIUM

### TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Sarjana Teknik  
Pada  
Program Studi S-1 Jurusan Teknik Lingkungan  
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh  
**TESYA PARAMITA PUTRI**  
NRP. 3313100054

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:



**Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD**  
NIP. 19711114 200312 2001



# **UJI KEMAMPUAN BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM PENYISIHAN LOGAM KROMIUM PADATAN TANAH TERCEMAR KROMIUM**

Nama Mahasiswa : Tesya Paramita Putri  
NRP : 3313100054  
Jurusan : Teknik Lingkungan FTSP ITS  
Dosen Pembimbing : Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD.

## **ABSTRAK**

Kegiatan industri elektroplating, penyamakan kulit dan industri logam menghasilkan limbah cair mengandung logam berat kromium. Kromium merupakan salah satu logam berat yang memiliki sifat toksik sehingga membahayakan bagi kesehatan dan lingkungan. Kromium yang terlepas sebagai limbah seringkali dalam bentuk Cr(III) dan Cr(VI). Pencemaran kromium di tanah terjadi akibat air limbah atau *sludge* industri yang sengaja dibuang dengan konsentrasi yang melebihi baku mutu. Bioremediasi merupakan salah satu teknologi yang dapat digunakan pada upaya meremediasi lahan yang tercemar oleh logam berat. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang telah banyak diteliti sebagai bakteri penyisihan kromium pada tanah tercemar kromium. Bakteri *Bacillus subtilis* resisten pada limbah yang mengandung konsentrasi kromium cukup tinggi.

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi kromium dan variasi persentase penambahan volume bakteri. Variasi konsentrasi kromium yang digunakan adalah 100,75,50 mg/L (38, 29, 19 mg/kg). Reaktor yang digunakan sebanyak 8 reaktor yaitu 6 reaktor utama dan 2 reaktor kontrol dengan sistem duplo. Penentuan variasi penambahan volume bakteri diuji terlebih dahulu pada persentase 0%,5%,10% dan 15% satuan volume per volume bulk density. Penelitian ini menggunakan tanah artifisial dari tanah pasir sungai sebesar 425 gram ditambah dengan larutan CrCl<sub>3</sub> sampai 100% bulk density tanah pasir. Waktu penelitian dilakukan selama 14 hari. Parameter yang diuji pada penelitian ini adalah pH tanah, suhu tanah, kelembaban tanah, jumlah koloni bakteri dengan metode

CFU (Colony Forming Unit) dan total kromium dengan uji AAS (*Atomic Absorbantion Spectroscopy*)

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan volume bakteri yang ditambahkan pada reaktor, melalui metode CFU (*Colony Forming Unit*) didapatkan persentase penambahan jumlah bakteri dalam reaktor yang tercemar kromium adalah penambahan 15% volume bakteri per volume bulk density tanah. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan tersebut , selanjutnya dilakukan uji penyisihan kromium dengan 2 macam perlakuan yaitu tanpa penambahan bakteri dan penambahan 15% jumlah bakteri. Persentase penyisihan kromium pada reaktor tanpa penambahan bakteri *Bacillus subtilis* tertinggi yaitu sebesar 31% ditunjukkan reaktor dengan konsentrasi penambahan kromium 50 mg/L (19 mg/kg). Persentase penyisihan kromium pada reaktor dengan penambahan 15% bakteri *Bacillus subtilis* yaitu sebesar 11% ditunjukkan reaktor dengan konsentrasi kromium 75mg/L (29 mg/kg).

**Kata Kunci : *Bacillus subtilis*, bioremediasi, kromium, logam berat, tanah tercemar**

# THE ABILITY TEST OF *Bacillus subtilis* TO REMOVE CHROMIUM IN CHROMIUM CONTAMINATED SOIL

Name of Student : Tesya Paramita Putri  
NRP : 3313100054  
Study Programme : Teknik Lingkungan FTSP ITS  
Supervisor : Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD.

## ABSTRACT

Industrial electroplating activity, leather tanning and metal industries produce wastewater containing chromium heavy metals. Chromium is one of heavy metals which have toxic properties so its hazardous to health and the environment. Chromium that released as waste are often in the form of Cr (III) and Cr (VI). Chromium contamination in the soil are caused by wastewater or industrial sludge that intentionally dumped at a concentration that exceeds quality standards. Bioremediation is one of the technology that can be used to remediate heavy metal contaminated soil. *Bacillus subtilis* is a bacteria that has been widely studied in elimination for chromium in the contaminated soil. *Bacillus subtilis* are resistant to wastes that have high concentrated chromium.

The variables in this study were the concentration of chromium and the addition of varying concentrations of bacterias. Varying concentrations of chromium were 100, 75, and 50 mg/L (38, 29, and 19 mg/kg). The reactors in this study were 8 reactors with 6 main reactors and 2 control reactors. The latter variable was the addition of varying concentration of bacterias, i.e 0%, 5%, 10% and 15% unit volume per volume of bulk density. This study used 425 grams artificial contaminated sandy soil with addition of CrCl<sub>3</sub>. Chromium allowance test was conducted over 15 days. The parameters tested in this study were pH, temperature, moisture, the number of bacterial colonies by the method of CFU (Colony Forming Unit) and total chromium tested with AAS (Atomic Spectroscopy Absorbantion).

The preliminary study resulted in the percentage of total volume of bacteria added to the reactor, with the methods of CFU (Colony Forming Unit) was 15% additional in volume per volume of bacterial and soils bulk density. Based on preliminary research results, the primary test was conducted chromium without addition of bacteria and 15% addition volume of bacteria. The highest percentage of chromium reduction in the reactor with 0% addition of *Bacillus subtilis* was 31% indicated the reactor with chromium concentration of 50 mg/L (19 mg/kg). The highest percentage of chromium reduction in the reactor with 15% addition of *Bacillus subtilis* was 11% indicated the reactor with chromium concentration of 75mg/L (29 mg/kg).

**Kata Kunci : *Bacillus subtilis*, bioremediation, chromium, contaminated soil, heavy metal**



## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan pada Alloh SWT karena atas Rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir dengan judul “Uji Kemampuan Bakteri *Bacillus Subtilis* dalam Penyisihan Logam Kromium pada Tanah Tercemar Kromium”.

Saya mengucapkan terima kasih kepada keluarga besar saya yang telah mendukung dan mendoakan segala usaha saya. Selain itu saya juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Ipung Fitri Purwanti, ST., MT., PhD selaku dosen pembimbing tugas akhir, terima kasih atas kesediaan, kesabaran, bimbingan dan ilmu yang diberikan
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Nieke Karnaningroem, M.Sc., Ibu Harmin Sulistyaning Titah, ST., MT., PhD dan Bapak Ir. R. Irwan Bagyo Santoso., MT. selaku dosen penguji tugas akhir, terima kasih atas saran serta bimbingannya
3. Laboran Jurusan Teknik Lingkungan yang telah membantu dan memfasilitasi ketika di Laboratorium
4. Bapak Welly Herumurti, ST., M.Sc yang selalu bersedia membantu dan menjadi motivator saya

Saya menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini. Oleh karena itu saya menerima saran agar penulisan laporan tugas akhir ini menjadi lebih baik. Semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi pembaca.

Surabaya, Januari 2017

Penulis

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	iii
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
BAB 1_PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Ruang Lingkup .....	3
1.5 Manfaat.....	4
BAB 2_TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Keberadaan Kromium di Tanah .....	5
2.2 Pencemaran Kromium .....	7
2.4 Bioremediasi Kromium oleh Bakteri di Tanah.....	8
2.5 Bioaugmentasi.....	8
2.6 Karakteristik <i>Bacillus sp.</i> .....	9
2.7 Mekanisme Penyisihan Kromium oleh Bakteri .....	11
2.8 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme.....	13
2.9 Laju Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	14
2.9 Penelitian Terdahulu .....	15

vii

BAB 3_METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Ide Tugas Akhir .....	17
3.2 Kerangka Penelitian .....	18
3.3 Studi Literatur.....	19
3.4 Persiapan Penelitian.....	19
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	24
3.6 Hasil dan Pembahasan .....	27
3.7 Kesimpulan dan Saran.....	28
BAB 4_HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Penentuan Jumlah Penambahan Bakteri .....	29
4.2 Penyisihan Logam Kromium dalam Sampel .....	31
4.2.1 Nilai pH .....	32
4.2.2 Suhu .....	34
4.2.3 Kelembaban .....	36
4.2.4 Jumlah Koloni Bakteri .....	36
4.2.5 Total Kromium .....	38
BAB 5_KESIMPULAN DAN SARAN .....	45
5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran .....	45
DAFTAR PUSTAKA .....	46
BIOGRAFI PENULIS .....	77

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Batas Kritis Logam Berat dalam Tanah, Air, dan Tumbuhan .....	7
Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu .....	16
Tabel 3. 1 Perlakuan antara Variasi Konsentrasi dan Persentase Volume Biakan Bakteri .....	25
Tabel 4. 1 Persentase Penyisihan Kromium .....	39
Tabel 4. 2 Hasil Uji Colony Forming Unit Hari ke 14 .....	42
Tabel L. 1 Hasil perhitungan CFU penelitian pendahuluan .....	61
Tabel L. 2 Foto hasil uji CFU pada penelitian pendahuluan .....	63
Tabel L. 3 Foto reaktor pada uji penelitian utama .....	65
Tabel L. 4 Foto hasil uji CFU pada penelitian utama .....	67
Tabel L. 5 Hasil uji parameter pH .....	69
Tabel L. 6 Hasil uji parameter suhu .....	69
Tabel L. 7 Hasil perhitungan jumlah koloni pada penelitian utama .....	70
Tabel L. 8 Data hasil uji AAS .....	71
Tabel L. 9 Hasil perhitungan persentase penyisihan kromium ...	71

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Siklus Perubahan Kromium di Alam .....	6
Gambar 2. 2	Posisi Bioaugmentasi diantara Beberapa Bioremediasi Proses .....	9
Gambar 2. 3	Sel <i>Bacillus subtilis</i> .....	10
Gambar 2. 4	Skema Transport Cr(VI) ke dalam Sel Bakteri.....	11
Gambar 2. 5	Mekanisme penyisihan kromium pada kondisi aerobik dan anaerobik.....	13
Gambar 2. 6	Laju Pertumbuhan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	15
Gambar 3. 1	Kerangka Penelitian.....	18
Gambar 3. 2	Reaktor Uji .....	26
Gambar 4. 1	Reaktor Uji Pendahuluan .....	29
Gambar 4. 2	Uji Persentase Penambahan Jumlah Bakteri .....	30
Gambar 4. 3	pH pada Reaktor Tanpa Penambahan Bakteri .....	33
Gambar 4. 4	pH pada Reaktor dengan Penambahan 15% Bakteri.....	33
Gambar 4. 5	Suhu pada Reaktor Tanpa Penambahan Bakteri .....	35
Gambar 4. 6	Suhu pada Reaktor dengan Penambahan 15% Bakteri.....	35
Gambar 4. 7	Bentuk koloni bakteri (a) Bakteri Pasir atau indigenous (b) <i>Bacillus subtilis</i> .....	37
Gambar 4. 8	Jumlah Koloni Bakteri Selama 14 hari .....	37
Gambar 4. 9	Konsentrasi Kromium.....	39
Gambar 4. 10	Persentase Penyisihan Kromium .....	40

**Halaman ini sengaja dikosongkan**



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tahap Peremajaan Isolate Bakteri .....	52
Lampiran 2 Tahap persiapan reaktor uji dan pelaksanaan penelitian.....	54
Lampiran 3 Ekstraksi Pencemar Inorganik dalam Media Tanah .	57
Lampiran 4 Tahap uji <i>Colony Forming Unit</i> .....	59
Lampiran 5 Data hasil penelitian.....	60
Lampiran 6 Hasil Analisis CFU Penelitian Pendahuluan .....	63
Lampiran 8 Hasil Analisis CFU Penelitian Utama .....	67
Lampiran 9 Data hasil perhitungan penelitian utama .....	69
Lampiran 10 Hasil Uji AAS.....	73

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanah merupakan kebutuhan utama yang harus dijaga kualitasnya oleh negara agraris seperti Indonesia. Kondisi tersebut berbanding terbalik dengan pesatnya pertumbuhan industri yang ada di Indonesia. Pertumbuhan industri seperti Industri *elektroplating*, penyamakan kulit, dan industri logam berpotensi dalam menghasilkan limbah logam berat kromium dalam kegiatan produksinya (Oves et al., 2009). Pencemaran kromium di alam banyak tersebar dalam bentuk  $\text{Cr}^{3+}$  dan  $\text{Cr}^6$ , kromium dalam bentuk  $\text{Cr}^{3+}$  lebih stabil dibandingkan dengan  $\text{Cr}^{6+}$ . Tingkat toksisitas dan kemampuan terlarut  $\text{Cr}^{6+}$  lebih besar jika dibandingkan dengan  $\text{Cr}^{3+}$ , meskipun keduanya dapat menimbulkan keracunan kronis (Avudainayagam et al., 2003).  $\text{Cr}^{6+}$  dapat terbentuk akibat oksidasi  $\text{Cr}^{3+}$  ketika masuk ke dalam tanah selama musim hujan dan menimbulkan pencemaran pada air tanah (Chandra, 2004). Menurut Dhal (2010) keberadaan kromium yang cukup mendominasi di tanah adalah  $\text{Cr}^{3+}$ .  $\text{Cr}^{3+}$  lebih cenderung teradsorb di permukaan tanah atau terendapkan dalam bentuk kromium hidroksida dalam suasana asam ataupun basa. (Dhal et al, 2013). Keberadaan  $\text{Cr}^{3+}$  berpotensi untuk teroksidasi menjadi  $\text{Cr}^{6+}$  pada keadaan aerobik, lembab dan basa sehingga meningkatkan toksisitas dari kromium pada tanah.

Pencemaran yang terjadi di sebuah area di Ranipet Tamilnadu India, sebesar 220.000 ton dari limbah padat (*sludge*) mengandung kromium dan dibuang tanpa penanganan. Porositas tanah yang besar mengakibatkan kontaminasi pada tanah dan air tanah di area tersebut (Jeyasingh et al, 2010). Indonesia juga memiliki beberapa industri yang berpotensi menimbulkan pencemaran kromium baik pencemaran pada air maupun pada tanah.

Perkiraan nilai ambang batas bahaya konsentrasi kromium pada tanah atau limbah padat berdasarkan AMEG (*Ambient Multimedia Environmental Goals*) USA adalah sebesar 10 mg/kg (Notodarmojo, 2005). Konsentrasi

maksimum kromium dalam tanah berdasarkan *Ministry of State for Population and Environmental of Indonesia and Dalhousie University Canada* (1992) sebesar 2,5 ppm. Nilai-nilai ambang batas maksimum konsentrasi kromium yang terlampaui akibat pencemaran akan membahayakan lingkungan dan kesehatan. Dibutuhkan pengolahan pada lahan tercemar untuk mengembalikan lahan sesuai peruntukannya.

Bioremediasi merupakan alternatif teknologi untuk remediasi sebuah area dan dapat memperbaiki sebuah lahan tercemar secara menyeluruh (Evelyn dan Ravisankar, 2014). Bioremediasi memanfaatkan reaksi metabolisme dari mikroorganisme untuk mendegradasi kontaminan yang terlepas pada lingkungan (Mahimariaja, 2011). Menurut Evelyn dan Ravisankar (2014) bioremediasi dipengaruhi dari kegiatan mikroorganisme yang dapat membantu mereduksi  $\text{Cr}^{6+}$  menjadi  $\text{Cr}^{3+}$  agar lebih stabil.

Jenis bakteri yang digunakan dalam bioremediasi harus disesuaikan dengan kemampuan masing-masing bakteri. Pada proses bioremediasi, bakteri memiliki kadar maksimum logam berat yang mampu diolah oleh bakteri (Mythili dan Karthikeyan, 2011). Penelitian bioremediasi sebelumnya mendapatkan hasil bahwa *Bacillus subtilis* menunjukkan resistensi terhadap logam berat seperti Cr, Pb, Cd, Mn, Ni, Zn, dan Cu (Cheng et al., 2009). *Bacillus subtilis* dapat menyisihkan konsentrasi kromium (Deepali, 2011). Penelitian yang terdahulu menunjukkan bahwa *Bacillus sp* mampu menyisihkan lebih dari 98% Cr (VI) pada tanah selama 10 jam pada pH 7 dengan konsentrasi awal sebesar 500 mg/kg Cr (VI) (Dhal et al., 2013).

Pencemaran kromium pada tanah mengakibatkan gangguan pada lingkungan dan kesehatan makhluk hidup. Salah satu metode remediasi yang dapat diterapkan pada penanggulangan tanah tercemar adalah bioremediasi. Bakteri *Bacillus subtilis* mampu menurunkan kandungan kromium. Penelitian ini menguji pengaruh bioaugmentasi atau penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada penyisihan kromium dalam tanah tercemar kromium.

## 1.2 Rumusan Masalah

Pencemaran kromium pada tanah mengakibatkan gangguan pada lingkungan dan kesehatan makhluk hidup. Salah satu metode remediasi yang dapat diterapkan pada tanah tercemar adalah bioremediasi(bioaugmentasi). Bakteri *Bacillus subtilis* mampu menurunkan kandungan kromium. Penelitian ini menguji pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada penyisihan kromium dalam tanah tercemar.

## 1.3 Tujuan

1. Menentukan penyisihan kromium pada tanah tercemar kromium oleh bakteri
2. Menentukan pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada tanah tercemar dalam penyisihan kromium

## 1.4 Ruang Lingkup

1. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus subtilis* yang diperoleh dari Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS
2. Tanah yang digunakan adalah tanah pasir sungai.
3. Limbah  $\text{Cr}^{3+}$  yang digunakan adalah limbah buatan dalam bentuk  $\text{CrCl}_3$
4. Variasi penambahan bakteri diuji dengan penelitian pendahulu pada penambahan bakteri sebesar 0%, 5%, 10% dan 15% satuan volume bakteri per volume tanah (mL/mL)
5. Variasi konsentrasi  $\text{Cr}^{3+}$  yang digunakan adalah sebesar 100 mg/L 75 mg/L dan 50 mg/L (19,29, dan 28 mg/kg).
6. Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah konsentrasi total kromium, pH, suhu, kelembaban tanah dan jumlah koloni bakteri
7. Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium yang akan dilakukan di Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS dan *Workshop* Teknik Lingkungan FTSP ITS

8. Analisis total kromium dilakukan dengan metode AAS (*Atomic Absorption Spectrometri*) di Laboratorium Tim Afiliasi dan Konsultasi Industri Teknik Kimia FTI ITS
9. Waktu penelitian dilakukan selama 3 bulan dari Bulan September sampai November 2016 dan waktu pelaksanaan penelitian utama (*running reaktor*) selama 14 hari

### **1.5 Manfaat**

1. Sebagai salah satu alternatif pengolahan yang dapat digunakan untuk menyisihkan kandungan kromium pada tanah tercemar kromium
2. Sebagai dasar dari penelitian lanjutan yang berkaitan dengan bioremediasi tanah tercemar kromium menggunakan *Bacillus subtilis*
3. Sebagai dasar teori upaya pemanfaatan kembali hasil pengolahan tanah tercemar kromium

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Keberadaan Kromium di Tanah**

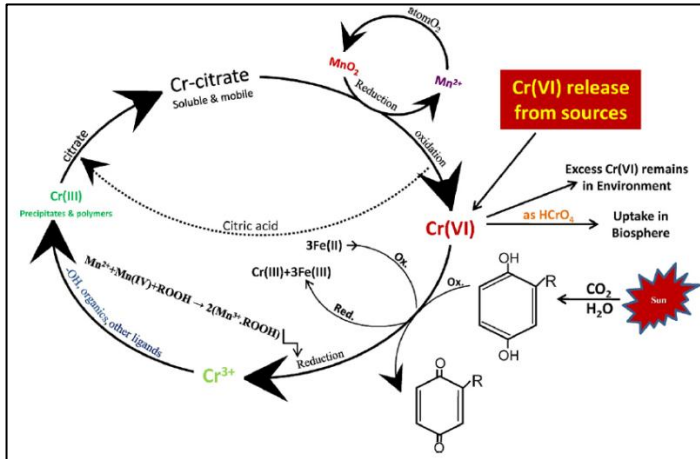
Kromium merupakan logam yang keras, berkilauan, berwarna perak keabu-abuan dan merupakan salah satu golongan VI B pada tabel periodik. Kromium diberi lambang Cr, memiliki nomor atom 24, massa atom 51,99 dan memiliki 6 valensi mulai dari -2 sampai +6 (Arinda, 2013). Kromium ditemukan pada semua fase di lingkungan yaitu di udara, air dan tanah. Cr (VI) lebih toksik dan lebih mudah terlarut jika dibandingkan dengan Cr(III), tetapi keduanya sangat berbahaya dan menyebabkan keracunan kronis (Avudainayagam et al., 2003).

Keberadaan kromium yang cukup mendominasi di tanah adalah Cr(III). Cr (III) lebih cenderung teradsorb di permukaan tanah atau terendapkan dalam bentuk kromium hidroksida dalam suasana asam ataupun basa. Cr (III) dan Cr (IV) di tanah memiliki sifat fisika dan kimia yang berlawanan. Cr (VI) lebih solubel karena memiliki afinitas yang kuat dari ion negatif dan koloid tanah, dan membentuk senyawa yang larut yaitu  $\text{Cr}(\text{OH})_3$ . Keberadaan bentuk kromium di tanah bergantung pada potensial redoks dan pH, dalam pembentukan Cr (III) di dominasi pada asam. Reduksi Cr (VI) menjadi Cr (III) meningkat seiring dengan menurunnya pH. (Dhal et al, 2010). Cr (III). Sehingga pada pH basa kromium cenderung berbentuk Cr(VI).

Kromium dalam tanah secara natural dapat mengalami oksidasi atau reduksi, tergantung pada kondisi oksigen di atmosfer. Oksidasi Cr(III) menjadi Cr(VI) dilakukan oleh mangan dioksida menurut Apte et al. (2005) dan menurut James (2002) reduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) dapat dilakukan oleh unsur karbon pada tanah, kedua reaksi berlangsung secara spontan. Kedua reaksi dapat berlangsung pada waktu yang sama. Cr(III) yang ditambahkan pada tanah aerobik akan teroksidasi dan Cr(VI) yang ditambahkan ke tanah aerobik akan tereduksi. Proses reduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) lebih

mudah terjadi dibandingkan dengan oksidasi Cr(III) menjadi Cr(VI) pada tanah menurut Cervantes et al. (2001).

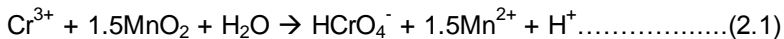
Siklus oksidasi dan reduksi kromium pada keadaan aerobik dan anaerobik dapat dilihat pada Gambar 2.1



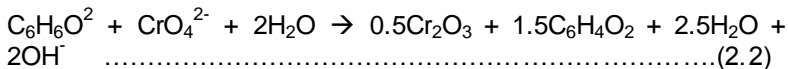
**Gambar 2.1 Siklus Perubahan Kromium di Alam**

Sumber : Dhal et al (2013)

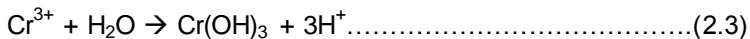
Reaksi kimiawi oksidasi Cr(III) menjadi Cr(VI) oleh mangan dioksida pada kadaan pH netral :



Reaksi kimiawi reduksi Cr(VI) menjadia Cr(III) oleh bahan organik pada tanah (seperti *hydroquinone* dengan bentuk *quinine*)



Cr (III) yang terlarut didalam air akan membentuk kromium hidroksida sesuai persamaan 2.3:





Kromium hidroksida bersifat amfoter. Menurut Cheng dan Li (2009) larutan kromium memiliki pH yang cenderung basa. Tumpahan larutan kromium pada tanah berpotensi meningkatkan pH tanah dan meningkatkan potensi oksidasi kromium. Sifat kromium dalam bentuk Cr(VI) lebih soluble dan bio-available dibandingkan Cr(III). Cr (VI) adalah bentuk anion kromium dalam kondisi ruang, pada pH > 6,4 kromium berada dalam bentuk kromat ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) dan jika dalam keadaan pH < 6,4 kromium berada dalam bentuk bikromat ( $\text{HCrO}_4^-$ ) (James, 2002).

## 2.2 Pencemaran Kromium

Industri *electroplating*, penyamakan kulit, dan industri logam berpotensi dalam menghasilkan limbah logam berat kromium dalam kegiatan produksinya (Oves et al., 2013). Kromium dalam bentuk  $\text{Cr}^{6+}$  terbentuk akibat oksidasi  $\text{Cr}^{3+}$  ketika masuk ke dalam tanah selama musim hujan dan menimbulkan pencemaran pada air tanah (Chandra, 2004). Telah terjadi pencemaran di beberapa wilayah di Indonesia diantaranya pencemaran di area persawahan di Kecamatan Juwana, Kabupaten Pati, Jawa Tengah dari sebuah industri elektroplating yang mengandung kromium sebesar 6,0-27,7 mg/kg pada tanahnya. Pencemaran juga terjadi di area persawahan di Rancaekek, Kabupaten Bandung, Jawa Barat telah tercemar industri tekstil mengandung kromium sebesar 13 mg/kg pada tanahnya (Kurnia, 2003).

**Tabel 2. 1 Batas Kritis Logam Berat dalam Tanah, Air, dan Tumbuhan**

Logam Berat	Tanah (ppm)	Air (ppm)	Tumbuhan (ppm)
Pb	100	0,03	50
Cd	0,5	0,05-0,1	5-30
Co	10	0,4-0,6	15-30
Cr	2,5	0,5-1,0	5-30
Ni	50	0,2-0,5	5-30
Cu	60-125	2-3	20-100
Mn	1500	-	-
Zn	70	5-10	100-400

Sumber: *Ministry of State for Population and Environmental of Indonesia and Dalhousie, University Canada* (1992)

Perkiraan nilai ambang batas bahaya konsentrasi kromium pada tanah atau limbah padat berdasarkan AMEG (*Ambient Multimedia Environmental Goals*) USA sebesar 10 mg/kg (Notodarmojo, 2005). Konsentrasi maksimum kromium dalam tanah berdasarkan *Ministry of State for Population and Environmental of Indonesia and Dalhousie University Canada* (1992) sebesar 2.5 ppm, yang dapat dilihat pada Tabel 2.1

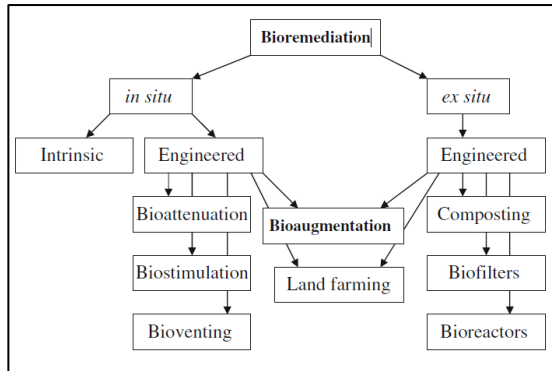
## **2.4 Bioremediasi Kromium oleh Bakteri di Tanah**

Proses ini sering disebut sebagai mekanisme detoksifikasi. Bakteri yang resisten memiliki kemampuan untuk tetap bertahan hidup di lahan yang tercemar oleh logam dengan proses detoksifikasi secara langsung pada jenis logam tertentu (Evelyne dan Ravisankar, 2014).

Beberapa bakteri mampu melakukan bioremediasi pada tanah tercemar kromium. *Achromobacter calcoaceticus* memiliki kemampuan removal sebesar 67,14% dengan konsentrasi awal 500 ppm pada suhu 30° selama 24 jam pada pH 7 (Mishra, V et al., 2010). ). Penelitian mengenai penyisihan kromium juga dilakukan oleh Ahirwar, N.K et al., (2013) *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas fluorescens* mampu menyisihkan 48% dan 60% kromium dari konsentrasi 50. Dhal, B et al, (2013) *Bacillus sp* mampu menyisihkan lebih dari 98% Cr (VI) pada tanah selama 10 jam pada pH 7 dengan konsentrasi awal sebesar 550 mg/kg Cr (VI)

## **2.5 Bioaugmentasi**

Bioremediasi merupakan alternatif teknologi untuk remediasi sebuah area dan dapat memperbaiki sebuah lahan tercemar secara menyeluruh (Evelyne dan Ravisankar, 2014). Bioremediasi memanfaatkan reaksi metabolisme dari mikroorganisme untuk mendegradasi kontaminan yang terlepas pada lingkungan (Mahimariaja, 2011). Salah satu strategi bioremediasi adalah bioaugmentasi yaitu upaya meningkatkan kemampuan biodegradasi polutan pada lahan tercemar dengan menambahkan *single strain* bakteri atau *consortia* bakteri yang memungkinkan (Mrozik dan Pitrowska-Seget, 2010)



**Gambar 2. 2 Posisi Bioaugmentasi diantara Beberapa Bioremediasi Proses**

Sumber: Mrozik dan Pitrowska-Seget (2010)

Faktor abiotik dan biotik sangat mempengaruhi efektifitas bioaugmentasi. Temperatur, kelembaban, pH, kandungan organik, aerasi, nutrient merupakan faktor abiotik yang sangat penting dalam menentukan efektifitas bioaugmentasi. Keberhasilan bioaugmentasi juga dipengaruhi oleh jenis mikroorganisme yang digunakan. Mikroorganisme yang digunakan bakteri yang mampu bertahan hidup dilingkungan tercemar. Mikroorganisme yang paling baik digunakan adalah mikroorganisme yang terseleksi dari hasil isolasi lokasi tercemar yang telah dibiakkan dilaboratorium. Salah satu hal paling sulit pada bioaugmentasi adalah menjaga bakteri yang telah diinokulasi pada lahan tercemar untuk tetap hidup. Penurunan jumlah *exogenous* bakteri sering terjadi setelah diinokulasikan (Mrozik dan Pitrowska-Seget , 2010).

## 2.6 Karakteristik *Bacillus sp.*

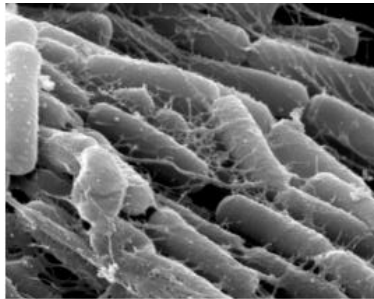
Berdasarkan ketebalan dinding sel (*Peptidoglikan*) *Bacillus subtilis* merupakan salah satu jenis bakteri gram positif dan berbentuk basil (batang). *Bacillus* dapat hidup dikondisi dengan adanya oksigen atau tidak ada oksigen sehingga disebut sebagai mikroorganisme anaerobik fakultatif (Zheng et al., 2015). *Bacillus* merupakan bakteri yang bersifat mesofilik. Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang

berasal dari tanah, sehingga *Bacillus subtilis* akan hidup dengan baik pada media tanah.

Secara umum *Bacillus* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacilliales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>

Gambar 2.3 menunjukkan sel *Bacillus subtilis*



**Gambar 2. 3 Sel *Bacillus subtilis***

(Sumber : Morikawa, M. et al., 2006)

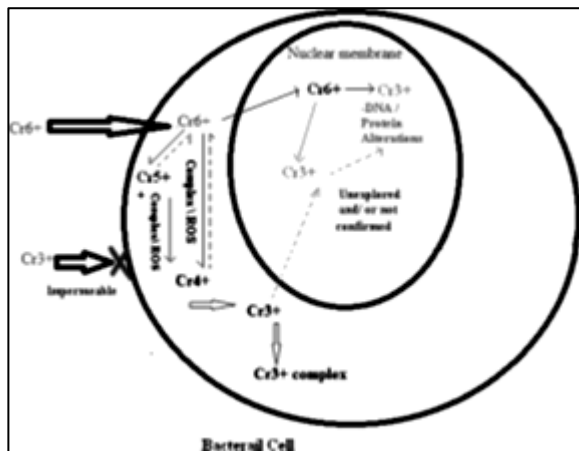
*Bacillus* memiliki sifat yang menguntungkan karena dapat hidup dalam waktu lama pada kondisi lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhannya. *Bacillus* mampu bertahan hidup di lokasi yang tercemar oleh logam berat. Logam berat yang terdapat di lokasi tersebut akan diabsorpsi oleh *Bacillus* karena kemampuannya dalam bioabsorpsi (Oves et al., 2013). Proses biosorpsi ini akan menyebabkan terserapnya logam berat ke dalam sel bakteri.

*Bacillus* akan menghasilkan enzim katalase (Nath dan Ray, 2015). Enzim ini berfungsi untuk memecah zat berbahaya yang masuk ke dalam sel bakteri. *Bacillus* juga mampu menghasilkan enzim reduktase. Enzim reduktase berfungsi untuk menurunkan (reduksi) kadar toksitas logam

berat yang menjadi pencemar utamanya. Logam berat akan diubah struktur kimianya menjadi bentuk yang tidak toksik.

## 2.7 Mekanisme Penyisihan Kromium oleh Bakteri

Bioremediasi adalah proses pemulihan lingkungan dengan memanfaatkan proses metabolisme pada mikroorganisme untuk menghilangkan pencemar. Bioremediasi tanah terkontaminasi Cr(VI) dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung pada proses reduksi biologisnya. Reduksi secara langsung oleh bakteri terjadi pada permukaan tanah (kondisi aerobik). Pada lapisan tanah di bawahnya akan terjadi reduksi secara tidak langsung oleh bakteri (kondisi anaerobik) (Losi et al., 1994).



Gambar 2. 4 Skema Transport Cr(VI) ke dalam Sel Bakteri

Sumber: Kanmani et al. ( 2011)

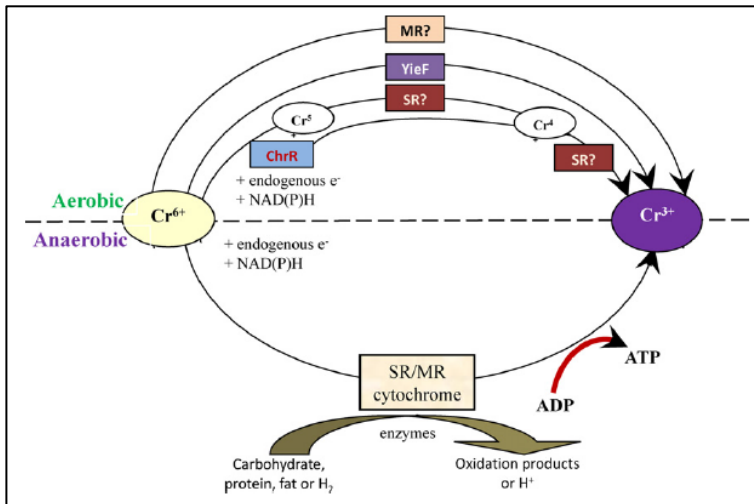
Biotransformasi dan biosorpsi adalah teknologi yang sering digunakan untuk penyisihan logam berat. Biotransformasi adalah alternatif yang paling baik untuk diaplikasikan. Biotransformasi merubah kromium Cr(VI) yang sangat toksik dan memiliki mobilitas tinggi menjadi Cr (III) yang kurang toksik dan bermobilitas rendah. Biosorption

menyerap kromium ke dalam tubuh bakteri dan dapat dikeluarkan kembali setelah ditransformasi menjadi bentuk yang tidak berbahaya (Kanmani et al., 2012). Penyisihan kromium pada umumnya terjadi dalam kondisi aerobik dan anaerobik dapat dilihat pada Gambar 2.4.

Proses biosorpsi logam berat adalah proses pengambilan ion logam yang terjadi di dalam maupun di luar sel (Triatmojo dkk., 2001). Organ yang terlibat pada proses biosorpsi adalah dinding sel yang mengandung polisakarida dan protein (Ahmad, 2012). Proses ini terjadi secara pasif yaitu tidak melibatkan metabolisme mikroorganisme, dan hanya terjadi proses osmosi atau difusi pada dinding sel. Bakteri *Bacillus* sp. juga mampu menghasilkan enzim untuk perlindungan diri dari konsentrasi kromium yang terlalu tinggi, bakteri mampu menghasilkan enzim *katalase* atau *superperoksida dismutase* (SOD), untuk konsentrasi kromium yang ditinggi akan diikat oleh enzim *katalase* sebelum masuk pada dinding sel (Dhal et al., 2013). Sifat Cr(III) yang kurang toksik menyebabkan kurangnya impermeabilitas pada membrane sel, sehingga Cr(III) kurang soluble dan tidak dapat terpresipitasi atau tersisihkan (Dhal et al, 2013).

Bakteri *Bacillus* sp. melakukan biotransformasi secara langsung. Pada keadaan aerobik terjadi biotransformasi oleh bakteri dengan menghasilkan enzim *reduktase* yang merubah bentuk kromium menjadi Cr (V), Cr(IV) hingga mendapatkan produk akhir berupa Cr (III). Kromium yang telah masuk pada sel akan bereaksi secara spontan dengan reduktan intraseluler seperti *askorbat* dan *glutathione* untuk merubah kromium yang bersifat toksik menjadi kromium *intermediate*, radikal bebas dan kromium yang memiliki kadar toksik lebih rendah.

Pada kondisi anaerobik, kromium digunakan sebagai terminal elektron akseptor untuk mengurangi kromium dalam ruang *periplasmic* oleh enzim *hidrogenase* atau pada sitokrom *c3* (Dhal et al, 2013). Pada beberapa penelitian diketahui bahwa hasil akhir dari reduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) pada pH netral atau pH basa bukanlah  $\text{Cr(OH)}_3$  melainkan berupa organik-Cr(III) kompleks yang merupakan bagian dari *biogeochemical cycle* dari kromium.



**Gambar 2. 5 Mekanisme penyisihan kromium pada kondisi aerobik dan anaerobik**

Sumber: Dhal et al. (2013)

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Dhal et al, 2013) diketahui bahwa reduksi kromat yang dilakukan oleh *Bacillus sp.* pada pH 7,  $\text{Cr(III)}$  yang dihasilkan dalam bentuk *chromium hydrogen phospat* ( $\text{CrH}_2\text{P}_3\text{O}_{10} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dari pengujian menggunakan PXRD pada fase kering.

## 2.8 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan mikroorganisme memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai agar dapat tumbuh dan berkembang biak. Faktor lingkungan yang sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme adalah: suhu, kondisi atmosferik, pH, dan tekanan osmosis.

**Suhu** yang dibutuhkan oleh setiap spesies mikroorganisme berbeda-beda, sehingga dikelompokkan menjadi 3 golongan atas dasar suhu yang sesuai untuk menunjang kehidupannya, yaitu :

1. Psikofil ,dapat tumbuh pada kisaran suhu sekitar 0°C atau lebih rendah lagi
2. Mesofil, dapat tumbuh dengan baik pada suhu 25-40°C
3. Termofil, dapat tumbuh dengan baik pada suhu 45-60°C

**Kondisi atmosferik** pada mikroorganisme dikelompokkan menjadi 4 berdasarkan akan kebutuhannya oksigenya, yaitu :

1. Mikroorganismee aerobik, yaitu mikroorganisme yang memerlukan O<sub>2</sub> untuk melangsungkan respirasi seluler.
2. Mikroorganisme anaerobik obligat, yaitu kelompok mikroorganisme yang tidak dapat hidup dan berkembang biak dalam lingkungan yang mengandung O<sub>2</sub>
3. Mikroorganisme anaerobik fakultatif, yaitu kelompok mikroorganisme yang dapat hidup dengan atau tanpa kehadiran O<sub>2</sub>
4. Mikroorganisme mikroaerofilik, yaitu mikroorganisme aerobik yang hanya memerlukan tekanan O<sub>2</sub> rendah

**Nilai pH** yang ekstrim rendah dapat mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan mikroorganisme, karena dapat mempengaruhi aktifitas enzim. Kisaran pH optimum untuk kebanyakan mikroorganisme adalah 6,5 sampai 7,5 dengan batas minimum dan maksimum 4 sampai 9.

**Tekanan osmosis** terjadi pada dinding sel mikroorganisme. Mikroorganisme pada umumnya tumbuh pada lingkungan yang sedikit lebih hipotonik dari sitoplasmanya. Kondisi hipotonik memiliki konsentrasi zat terlarut dalam tubuh mikroorganisme yang lebih tinggi daripada kondisi di luar sel, sehingga terjadi *plasmoptisis*. *Plasmoptisis* yaitu mengalirnya air dari luar ke dalam sel. Kondisi yang sebaliknya jika konsentrasi zat terlarut dalam sitoplasma lebih rendah maka akan menyebabkan keluarnya air dari dalam tubuh mikroorganisme yang disebut *plasmolisis*.

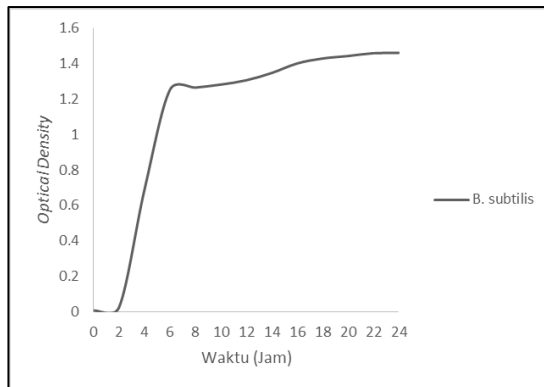
(Trihadiningrum, 2012).

## 2.9 Laju Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*

Pertumbuhan mikroorganisme dapat ditentukan berdasarkan pola reproduksinya. Penelitian yang dilakukan



oleh Kurniawan, 2016 pada pengujian laju pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* selama 24 Jam menggunakan nilai Optical Density dapat dilihat pada Gambar 2.6.



**Gambar 2.6 Laju Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis***

Sumber : Kurniawan, 2016

Berdasarkan Gambar 2.2 , fase aklimatisasi bakteri *Bacillus subtilis* terjadi dari jam ke-0 hingga jam ke-2, dilanjutkan dengan fase pertumbuhan eksponensial pada jam ke-2 hingga jam ke-6. Fase eksponensial bakteri *Bacillus subtilis* diikuti oleh fase stasioner dari jam ke-6 hingga jam ke-24. Belum terlihat fase kematian bakteri hingga akhir waktu uji, sehingga fase kematian bakteri belum terlihat hingga lebih dari 24 jam. Tidak terlihatnya fase kematian bakteridikarenakan pengujian jumlah bakteri menggunakan metode *Optical Density*, yaitu pengujian jumlah bakteri tidak langsung yang tidak bisa membedakan bakteri yang mati atau hidup. Jumlah bakteri yang terukur cenderung naik seiring dengan naiknya nilai *Optical Density*.(Kurniawan, 2016)

## 2.9 Penelitian Terdahulu

Penelitian tentang penyisihan kromium pada pencemaran yang terjadi pada tanah telah banyak dilakukan penelitian sebelumnya. Penelitian tersebut digunakan sebagai acuan pada penelitian selanjutnya, yaitu mempermudah penelitian

selanjutnya dalam menentukan metode penelitian yang paling efektif untuk menunjang proses penyisihan kromium. Beberapa penelitian mengenai penyisihan kromium pada media tanah menggunakan bakteri *Bacillus sp.* yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2.2.

**Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu**

No	Bakteri	Media	Konsentrasi Awal	Efisiensi	Teradsorb	Rujukan
1	<i>Bacillus sp.</i>	Tanah	550 mg/kg	>98%	-	Dhal et al, (2013)
2	<i>Bacillus sp.</i>	Tanah	50 mg/kg	48%	-	Ahirwar et al. (2013)
3	<i>Bacillus cirulans</i>	Tanah	50 mg/L	-	34,5 mg/g berat kering	Sinarth et al. (2002)
4	<i>Bacillus megatrium</i>	Tanah	50 mg/L	-	32 mg/g berat kering	Sinarth et al. (2002)
5	<i>Bacillus coagulans</i>	Tanah	50 mg/L	-	39,9 mg/g berat kering	Sinarth et al. (2002)
6	<i>Bacillus sp.</i>	Agar	80 mg/L	50%	-	Elangovan et al. (2006)
7	<i>Bacillus sp.</i>	Agar	600 mg/L	Resisten	-	Kathiravan et al. (2011)

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Ide Tugas Akhir

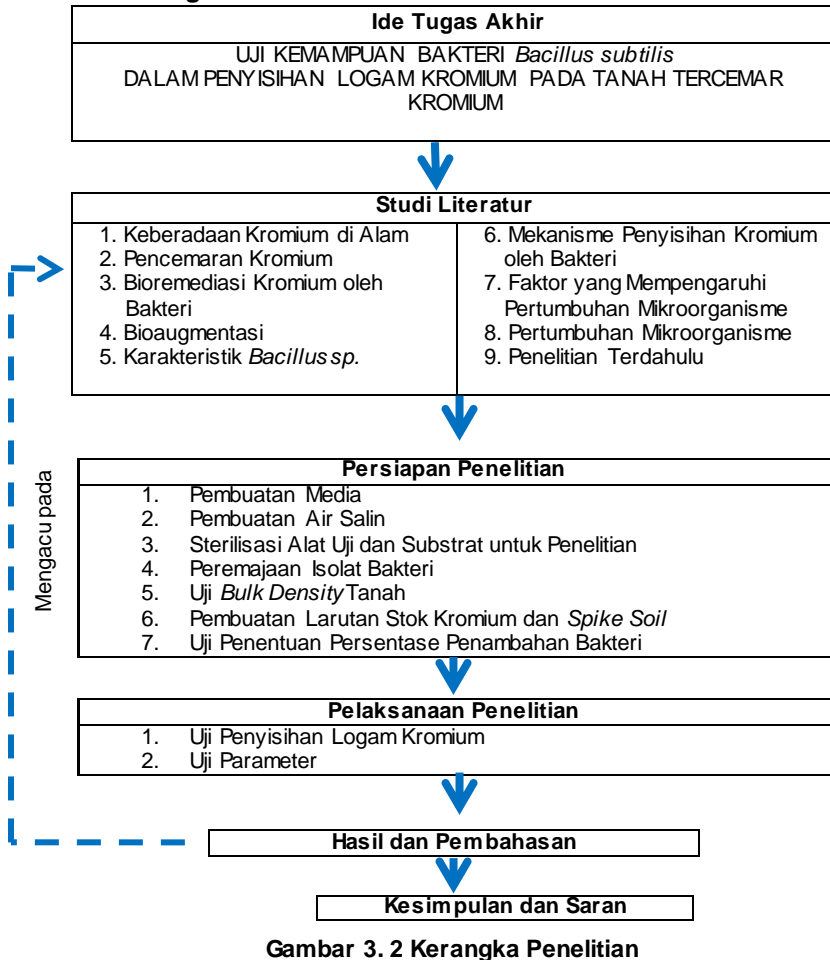
Metode penelitian merupakan acuan dalam melakukan penelitian. Penyusunan metode penelitian ini berupa tahapan dalam melakukan penelitian sehingga memudahkan dalam memahami proses yang dilakukan selama penelitian dijalankan. Metode penelitian ini disusun sebagai pedoman dalam melakukan penelitian sehingga kesalahan dapat diminimisasi.

Penelitian ini didasari pada potensi pencemaran tanah oleh limbah mengandung kromium. Industri seperti *elektroplating*, penyamakan kulit dan industri logam menghasilkan limbah yang masih mengandung kromium dalam konsentrasi tinggi. Dalam penelitian ini dilakukan uji penyisihan konsentrasi kromium buatan (*spiked soil*) dalam tanah pasir. Tanah yang digunakan merupakan tanah pasir. Tanah pasir memiliki porositas yang tinggi, sehingga meningkatkan mobilitas larutan dalam mencampurkan larutan kromium pada pasir (Shangguan et.al., 2016). Uji penyisihan kromium ini dilakukan menggunakan penambahan bakteri dengan memanfaatkan kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* yang resisten terhadap logam berat kromium. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dhal, B et al, (2013) menyatakan bahwa bakteri *Bacillus sp.* mampu menurunkan konsentrasi kromium di dalam tanah tercemar kromium dengan konsentrasi 550 mg/kg tanah sebesar lebih dari 98%. Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri tanah sehingga mampu tumbuh dalam media tanah dengan baik .

Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah analisis terhadap konsentrasi total kromium menggunakan AAS ( *Atomic Absorption Spectroscopy*), suhu, kelembaban, pH, dan jumlah koloni bakteri. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi kromium dan variasi persentase penambahan volume bakteri. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah koleksi bakteri dari Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik

Lingkungan FTSP ITS. Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium di Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS serta *Workshop* Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS.

### 3.2 Kerangka Penelitian



Gambar 3. 2 Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian ini merupakan bagan alir untuk memberikan gambaran umum mengenai tahapan-tahapan yang akan dilakukan dalam penelitian ini. Kerangka penelitian selengkapanya dapat dilihat pada Gambar 3.1

### 3.3 Studi Literatur

Studi literatur pada penelitian ini bersumber pada jurnal ilmiah, laporan tugas akhir, buku teks, serta tesis mengenai penelitian terdahulu tentang teknik bioremediasi tanah. Studi literatur ini bertujuan untuk menambah pengetahuan dan meningkatkan pemahaman terhadap ide penelitian yang telah dibuat. Literatur yang dibaca nantinya dapat digunakan sebagai acuan dalam perlakuan yang dilakukan selama penelitian berlangsung. Studi literatur yang dipelajari diantaranya mengenai:

- Karakteristik kromium dalam pencemaran kromium
- Bioremediasi kromium oleh bakteri
- Karakteristik *Bacillus sp.*
- Mekanisme penyisihan kromium oleh bakteri
- Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme
- Penelitian terdahulu

Studi literatur dilakukan dari awal sampai akhir untuk memastikan bahwa selama penelitian berlangsung dapat meminimisasi kesalahan baik dalam perlakuan maupun analisis hasil penelitian.

### 3.4 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan penelitian merupakan tahap yang bertujuan untuk melakukan persiapan sebelum dilakukan penelitian. Persiapan yang dilakukan diantaranya adalah menyiapkan alat dan bahan, peremajaan isolat bakteri, uji *bulk density* tanah dan pembuatan larutan stok kromium. Persiapan penelitian terdiri dari :

#### 1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan *Nutrient Broth* (NB) (Merck, Jerman) dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Pada pembuatan 1 L media NB, dibutuhkan 8 gram NB bubuk. NB bubuk ditimbang terlebih dahulu sesuai kebutuhan. NB yang telah ditimbang

kemudian dilarutkan menggunakan aquades (OneMed, Indonesia) sambil diaduk dengan spatula kaca (Pyrex, Jerman) sampai homogen. Setelah larut, dilakukan penguangan pada tabung reaksi (Pyrex, Jerman) atau tabung *Erlenmeyer* (Pyrex, Jerman). Media NB dibutuhkan sebagai media tumbuhnya bakteri pada tahap tumbuhnya bakteri dan uji penyisihan logam kromium. Setelah selesai maka dilakukan proses sterilisasi menggunakan *autoclave* (ASC, Jerman) pada suhu 121°C selama 1 jam.

## **2. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)**

Dalam pembuatan 1 L media nutrient agar (NA) (Merck, Jerman) dibutuhkan 20 gram NA bubuk. Bubuk NA ditimbang terlebih dahulu kemudian dilarutkan menggunakan aquades. Pelarutan dengan aquades (OneMed, Indonesia) dilakukan dengan pengadukan menggunakan spatula kaca (Pyrex, Jerman) sampai homogen dengan dipanaskan di atas kompor listrik (Maspion S-301, Indonesia). Setelah larut, dilakukan penguangan pada tabung reaksi (Pyrex, Jerman) ataupun tabung *erlenmeyer* (Pyrex, Jerman). Setelah selesai maka dilakukan proses sterilisasi menggunakan *autoclave* (ASC, Jerman) pada suhu 121°C selama 1 jam.

Dalam penelitian ini media NA yang dibuat digunakan untuk pembuatan media agar miring NA pada tabung reaksi dan pembuatan media agar NA pada cawan petri (Cover, USA). Tabung reaksi masing-masing akan diisi dengan 10 ml media agar dan cawan petri masing-masing akan diisi dengan 15 ml media agar.

## **3. Pembuatan Media Agar Miring NA pada Tabung Reaksi**

Media agar miring NA merupakan media yang disiapkan sebagai media pertumbuhan bakteri dan peremajaan isolat bakteri. Media agar miring berguna untuk memberikan nutrisi bagi bakteri agar tetap hidup dengan rentang waktu yang lebih lama. Proses pembuatan agar miring dilakukan setelah proses sterilisasi media agar NA pada tabung reaksi (Pyrex, Jerman). Tabung reaksi berisi media agar yang masih cair kemudian dimiringkan dengan memberi landasan didekat mulut tabung reaksi kemudian dидiamkan 15 menit sampai media agar

mengeras. Bakteri kemudian akan diinokulasikan pada agar miring pada kondisi aseptik dan disimpan di ruang inkubator (Mermert+, Jerman) dengan suhu 37°C.

#### **4. Pembuatan Media Agar NA pada Cawan Petri**

Pembuatan media agar pada cawan petri (Cover, USA) dimulai dengan menuangkan 15 ml media NA yang telah disterilisasi ke dalam masing-masing cawan petri steril. Pengisian media agar pada cawan petri dilakukan pada kondisi aseptik yaitu dengan mengapi-apikan mulut cawan ketika akan membuka dan menutup cawan dan melakukan kegiatan pemindahan didekat api dengan jarak 20 cm. Api yang digunakan berasal dari Bunsen (Pyrex, Jerman). Media agar yang diisi diusahakan dalam keadaan rata. Setelah media agar mengeras kemudian dilakukan inokulasi bakteri pada keadaan aseptik juga lalu disimpan pada incubator (Mermert+, Jerman) dengan suhu 37°C.

#### **5. Pembuatan Air Salin**

Air salin merupakan larutan fisiologis yang digunakan sebagai pencuci mikroorganisme dan pengencer pada saat *trial and error* absorbansi. Air salin dibuat dengan cara melarutkan 8.5 gram NaCl (Merck, Jerman) dalam 1 L aquades (OneMed, Indonesia). Kandungan NaCl pada air salin membentuk suasana hipotonik, sehingga mencegah lisisnya protoplasma pada sel bakteri ketika dilakukannya pengenceran jumlah bakteri. Campuran air salin diaduk sampai homogen kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan *autoclave* (ASC, Jerman) pada suhu 121°C selama 1 jam.

#### **6. Sterilisasi Alat Uji dan Substrat untuk Penelitian**

Setiap alat dan substrat yang digunakan pada penelitian ini harus disteriliasi agar menjaga dari terjadinya kontaminasi. Metode yang digunakan pada sterilisasi alat uji dan bahan mengacu pada Kubyshkina et al. (2011). Setiap alat khususnya yang berhubungan dengan mikroorganisme terlebih dahulu harus dicuci kemudian dikeringkan menggunakan tisu. Setelah kering, dilakukan pembungkusan menggunakan kertas coklat

dan karet sebagai pelek. Hal tersebut bertujuan untuk mencegah masuknya uap air pada alat yang disterilisasi pada *autoclave* (ASC, Jerman). Kemudian semua alat dimasukkan pada *autoclave*.

Media atau substrat yang digunakan sebagai bahan penelitian juga harus dilakukan sterilisasi. Bahan seperti media NB, media NA, Aquades harus disterilisasi agar mencegah terjadinya kontaminasi. *Autoclave* yang digunakan disetting dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam.

Semua alat yang dikontakkan dengan kromium harus direndam dalam cairan  $\text{HNO}_3$  selama 24 jam kemudian disterilisasi.

## **7. Peremajaan Isolat Bakteri**

Peremajaan isolat bakteri ini bertujuan agar mencegah indukan bakteri terhindar dari kontaminasi serta menjaga ketersediaan cadangan bakteri apabila terjadi kesalahan pada penelitian. Metode yang digunakan pada peremajaan isolat bakteri ini mengacu pada Machmud (2001). Peremajaan isolat bakteri ini dilakukan dengan melakukan inokulasi bakteri dari media agar miring induk ke media agar miring yang baru. Setelah dilakukan inokulasi kemudian inokulan diletakkan pada inkubator selama 24 jam. Hal ini dilakukan untuk menyiapkan bakteri sebelum digunakan dalam uji laju pertumbuhan bakteri dan uji penyisihan kromium oleh bakteri. Tahap-tahap peremajaan isolate bakteri secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 1.

## **8. Uji *Bulk Density* Tanah Pasir**

Penentuan besar *bulk density* bertujuan untuk mengetahui besar kemampuan pori tanah pasir untuk menampung kandungan air. Tahap yang dilakukan dalam pengujian *bulk density* adalah dengan mengambil 50 gram tanah pasir diletakkan pada corong yang telah diberi penyangga gelas beker dibawahnya. Kemudian disiapkan air aquades sebanyak 100 ml pada gelas ukur. Kemudian diuji dengan meneteskan air pada tanah sampai rata menggunakan pipet dan tertumpah tetesan pertama air dari corong. Lalu dicatat berapa air yang dibutuhkan sampai



tetesan pertama yang menunjukkan nilai *bulk density*. Nilai *bulk density* digunakan sebagai acuan banyaknya penambahan limbah kromium buatan ( $\text{CrCl}_3$ ) pada tanah pasir. Larutan kromium yang ditambahkan sama dengan nilai *bulk density* dari tanah pasir sesuai massa yang digunakan pada reaktor.

#### **9. Pembuatan Larutan Stok Kromium ( $\text{CrCl}_3$ ) dan *Spiked Soil***

Pembuatan larutan kromium dilakukan dengan cara melarutkan  $\text{CrCl}_3$  bubuk ke dalam 1 liter aquades sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Bubuk  $\text{CrCl}_3$  yang akan digunakan untuk membuat larutan stok kromium ditimbang menggunakan neraca analitik. Selanjutnya, bubuk  $\text{CrCl}_3$  dilarutkan ke dalam aquades dengan cara diaduk menggunakan spatula. Aquades yang digunakan untuk melarutkan bubuk  $\text{CrCl}_3$  merupakan aquades yang telah disterilisasi dengan *autoclave*. Larutan stok kromium digunakan pada penelitian utama sebagai substrat yang harus disisihkan

Pembuatan *spiked soil* dilakukan dengan mengayak tanah pasir dengan ukur 20 mesh. Kemudian dilakukan penimbangan tanah pasir sebesar 425 gram untuk setiap reaktor. Larutan stok kromium yang telah dibuat kemudian diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan lalu ditambahkan pada tanah pasir didalam masing-masing reaktor. Pada penelitian ini tanah yang digunakan merupakan tanah pasir. Tanah pasir memiliki porositas yang tinggi, sehingga meningkatkan mobilitas larutan dalam mencampurkan larutan kromium pada pasir (Shangguan et.al., 2016).

#### **10. Uji Penentuan Jumlah Penambahan Bakteri**

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk menentukan persentase jumlah bakteri yang ditambahkan pada reaktor. Berdasarkan Hardiani, dkk (2011), persentase yang di uji sebesar 0% (kontrol), 5%, 10% dan 15. Pengujian ini dilakukan pada konsentrasi kromium 50 mg/L yang sebanding dengan konsentrasi teoritis 19 mg/kg kromium dalam tanah. Konsentrasi 19 mg/kg kromium digunakan dengan acuan lebih

tinggi dari ambang batas konsentrasi kromium di tanah oleh AMEG sebesar 10 mg/kg. Massa tanah yang digunakan sebanyak 100 gram kemudian ditambahkan larutan kromium sesuai *bulk density* dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm. Akan diamati jumlah bakteri pada awal dan akhir menggunakan metode CFU dengan sistem duplo, untuk menentukan persentase yang memiliki jumlah pertumbuhan bakteri terbanyak pada proses penyisihan.

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

Tahap pelaksanaan penelitian merupakan tahap pengujian setelah semua persiapan dilakukan. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan beberapa tahap yaitu uji penyisihan logam kromium dan uji parameter.

#### 1. Uji Penyisihan Logam Berat Kromium dalam Sampel

Uji penyisihan merupakan penelitian utama pada penelitian ini. Uji ini dilakukan untuk menentukan pengaruh variasi konsentrasi kromium dan variasi persentase penambahan volume bakteri terhadap % penyisihan logam berat kromium. Metode yang digunakan pada tahap uji penyisihan logam berat kromium mengacu pada Hardiani, dkk (2011) yang telah disesuaikan. Parameter yang diuji pada tahap ini adalah pH, suhu, kelembaban, total kromium dan jumlah koloni bakteri. Pada penyisihan kromium dilakukan pengujian parameter total kromium yaitu semua bentuk kimia kromium, karena sifat kimia kromium yang mudah berubah valensi akibat perubahan pH (Dhal et al., 2013). Tahap penyisihan reaktor uji dan pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi kromium dan variasi persentase penambahan persentase volume bakteri pada sampel dapat dilihat pada Tabel 3.1. Variasi konsentrasi limbah cair buatan  $\text{CrCl}_3$  adalah 100, 75 dan 50 mg/L dan jika dimasukkan pada tanah maka konsentrasi kromium dalam tanah sebesar 38, 29 dan 19 mg/kg. Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus subtilis* dengan nilai *Optical Density* lebih besar dari 0.5 (Kurniawan, 2016). Besarnya variasi volume bakteri yang ditambahkan

sebesar (X%) sesuai hasil penentuan persentase penambahan terbaik pada persiapan penelitian dalam satuan *volume per volume* (V/V) dengan total volume tanah pasir, larutan kromium dan volume bakteri sebesar 400 ml. Massa tanah pasir yang dibutuhkan adalah 425 gram. Setiap hari dilakukan pengadukan pada reaktor untuk menjaga *supply* oksigen pada tanah. Perlakuan masing-masing reaktor berdasarkan variabel penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

**Tabel 3. 1 Perlakuan antara Variasi Konsentrasi dan Persentase Volume Biakan Bakteri**

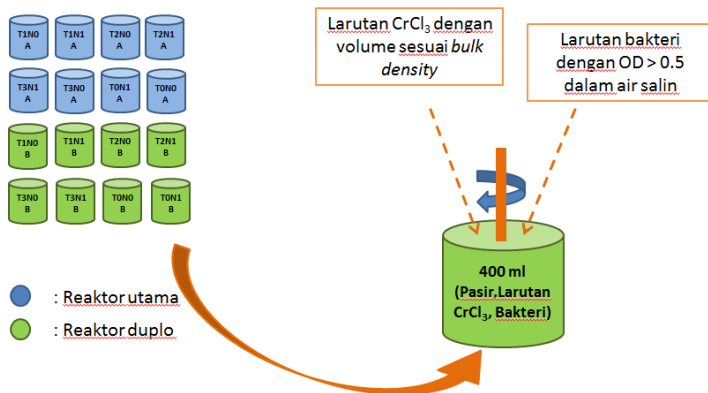
Konsentrasi Limbah (mg/L)	Konsentrasi Limbah (mg/kg)	Persentase Jumlah Bakteri %(mL/mL)	
		0% (K)	X% (B)
100	38	K100	B100
75	29	K75	B75
50	19	K50	B50

Keterangan :

B0 = Kontrol 0 mg/L kromium + 15% Bakteri

K0 = Kontrol 0 mg/L kromium + 0% Bakteri

Berdasarkan Tabel 3.1 diketahui jumlah reaktor uji yang dibutuhkan adalah 6 buah reaktor utama dan 2 reaktor kontrol. Pada penelitian ini dilakukan sistem duplo sehingga reaktor yang digunakan adalah 16 buah (Gambar 3.2). Proses bioremediasi dilakukan selama 14 hari sesuai dengan Jeyasing, J. dan Philip, L. (2005) yang telah disesuaikan.



**Gambar 3. 3 Reaktor Uji**

## 2. Uji Parameter

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah total kromium, jumlah koloni bakteri, pH, Suhu dan kelembaban.

### a. Uji total kromium

Parameter total kromium diuji sebanyak 2 kali, yaitu di awal dan di akhir proses bioremediasi. Parameter total kromium dianalisis di Laboratorium Tim Afiliasi dan Konsultasi Industri, Teknik Kimia ITS dengan metode AAS dengan perlakuan destruksi tanah menggunakan asam kuat (aqua regia) yang diambil dari setiap reaktor. Uji kandungan total kromium ini digunakan sebagai dasar penentuan besarnya tingkat penyisihan kromium dengan bioremediasi. Pengujian total kromium dilakukan karena sifat kromium yang cenderung tidak stabil pada kondisi lingkungan tertentu. Tahap-tahap ekstraksi pencemar inorganik dalam media tanah dijelaskan pada Lampiran 3.

### b. Uji jumlah koloni bakteri

Analisis jumlah koloni bakteri dilakukan sebanyak 3 kali di awal tengah dan akhir. Analisis dilakukan dengan

metode CFU (*Colony Forming Unit*) dengan pengenceran suspensi secara bertingkat. Pada analisis ini jumlah koloni yang terhitung dapat dianggap sebagai jumlah bakteri yang hidup. Tahap analisis CFU secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 4.

c. Uji nilai pH

Parameter nilai pH dianalisis pada awal perlakuan dan setiap 2 hari sekali. Analisis nilai pH masing-masing sampel dilakukan dengan *moister tester* dan pH ukur tanah dari Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan ITS. Pada pengukuran pH, suhu dan kelembaban dilakukan dengan memasukkan alat ukur pada reaktor dengan sterilisasi alkohol dan aquades.

d. Uji suhu

Analisis suhu pada masing-masing sampel dilakukan pada awal perlakuan dan setiap 2 hari sekali. Pengukuran suhu sampel dilakukan dengan menggunakan termometer dari Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan ITS .

e. Uji Kelembaban tanah

Parameter kelembaban pada masing-masing sampel diukur pada awal perlakuan dan setiap 2 hari sekali. Pengukuran kelembaban sampel dilakukan dengan *moister tester* dan pH ukur tanah dari Laboratorium Remediasi Lingkungan Jurusan Teknik Lingkungan ITS.

### 3.6 Hasil dan Pembahasan

Hasil dari penelitian ini ditampilkan dalam bentuk grafik dan tabel untuk memudahkan dalam melakukan pembahasan. Grafik dan tabel yang dimaksud digunakan untuk menggambarkan analisis hasil pelaksanaan penelitian yaitu uji penyisihan kromium dan uji parameter. Setiap grafik dan tabel yang disajikan, memberikan penjelasan deskriptif yang telah disesuaikan dengan dasar teori yang ada. Analisis data dan pembahasan yang dituliskan meliputi beberapa hal berikut :

1. Analisis pengaruh penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada penyisihan kromium dalam tanah tercemar kromium
2. Analisis persentase penyisihan kromium pada tanah tercemar kromium oleh *Bacillus subtilis*
3. Analisis pengaruh parameter uji pH, suhu, kelembaban dan jumlah bakteri yang hidup dengan metode CFU.

### **3.7 Kesimpulan dan Saran**

Kesimpulan disusun berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan penelitian. Kesimpulan menjawab rumusan masalah dan merupakan *point-point* yang dibuat secara ringkas dari hasil pembahasan. Kesimpulan yang dituliskan berisi tentang pengaruh variasi konsentrasi kromium dan variasi persentase penambahan volume bakteri pada penyisihan kromium pada tanah tercemar kromium.

Saran disusun berdasarkan hasil analisis pada penelitian. Saran berisi masukan terhadap peneliti terkait perbaikan pada kekurangan yang terdapat pada penelitian ini.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

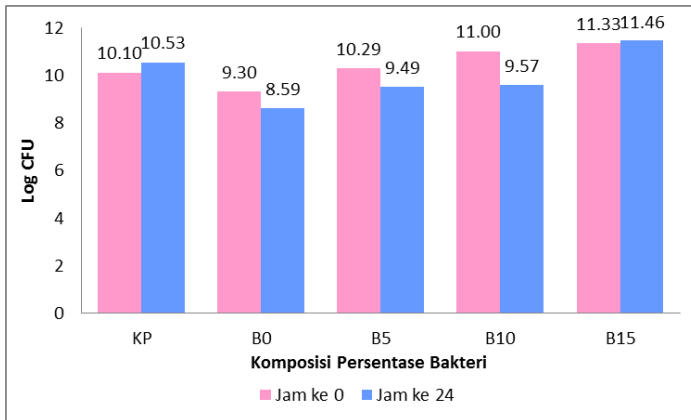
#### 4.1 Penentuan Jumlah Penambahan Bakteri

Uji penentuan jumlah penambahan bakteri merupakan uji pendahuluan yang digunakan untuk menentukan besar persentase jumlah volume bakteri yang ditambahkan pada reaktor uji berupa *spiked* tanah tercemar kromium. Larutan kromium yang ditambahkan adalah  $\text{CrCl}_3$ . Berdasarkan Hardiani dkk. (2011), persentase volume bakteri per volume *bulk density* tanah (V/V) yang di uji sebesar 0% (kontrol), 5%, 10% dan 15%. Persentase penambahan bakteri menggunakan %volume larutan kromium per volume *bulk density* tanah (V/V). Reaktor yang diuji pada penelitian pendahuluan sebanyak 5 reaktor yang terdiri 2 reaktor kontrol dan 3 reaktor uji. Massa tanah yang digunakan pada setiap reaktor adalah 100 gram dan larutan kromium yang digunakan sebanyak 38 mL (Gambar 4.1). Pengujian ini dilakukan pada konsentrasi kromium 50 mg/L yang sebanding dengan konsentrasi teoritis 19 mg/kg kromium dalam tanah. Konsentrasi 19 mg/kg kromium digunakan dengan acuan lebih tinggi dari ambang batas konsentrasi kromium di tanah oleh AMEG sebesar 10 mg/kg. Masing-masing reaktor kemudian *dishaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm.



Gambar 4. 1 Reaktor Uji Pendahuluan

Pengamatan jumlah bakteri pada awal dan akhir menggunakan metode CFU dengan sistem duplo, untuk menentukan persentase yang memiliki jumlah pertumbuhan bakteri terbanyak pada proses penyisihan. Hasil penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 4.2.



**Gambar 4. 2 Uji Persentase Penambahan Jumlah Bakteri**

**Keterangan:**

- KP = Reaktor kontrol pasir tanpa penambahan
- B0 = Reaktor kontrol tanpa penambahan bakteri
- B5 = Reaktor dengan penambahan bakteri 5%
- B10 = Reaktor dengan penambahan bakteri 10%
- B15 = Reaktor dengan penambahan bakteri 15%

Penentuan jumlah persentase volume bakteri dilakukan dengan pengujian sampel pada awal (0 Jam) dan akhir (24 Jam) setelah bakteri dimasukkan pada reaktor. Selama 24 Jam bakteri *dishaker* untuk memberikan aerasi pada bakteri karena bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri anaerobik fakultatif (Zheng et al., 2015) dan kegiatan penyisihan kromium oleh bakteri berjalan dengan baik pada keadaan aerobik (Jeyasing, et al., 2010)



Gambar 4.2 menunjukkan hasil pertumbuhan bakteri pada Jam ke 0 dan Jam ke 24 pengujian. Jumlah bakteri yang terdapat pada reaktor kontrol (KP) menunjukkan bahwa pada tanah pasir terdapat bakteri indigenous yang meningkat karena tanpa penambahan kromium. Hasil yang diperoleh pada Jam ke 0 menunjukkan bahwa jumlah bakteri pada masing-masing reaktor uji mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan persentase penambahan bakteri dan lebih tinggi dibandingkan jumlah bakteri kontrol (B0). Hasil yang didapatkan pada jam ke 24 juga memiliki tren yang sama yaitu semakin meningkat seiring peningkatan persentase penambahan bakteri dan lebih tinggi dari jumlah bakteri kontrol (B0).

Perbandingan peningkatan jumlah bakteri akibat penambahan bakteri *Bacillus subtilis* dengan reaktor kontrol tanpa penambahan bakteri (B0) yang paling tinggi dan signifikan adalah pada reaktor B15 yaitu sebesar 21,9% pada jam ke 0 dan 11,46% pada jam ke 24.

Jumlah bakteri yang terdapat pada reaktor cenderung menurun dari jam ke 0 sampai ke jam ke 24, kecuali pada reaktor B15 yang mengalami kenaikan cukup kecil yaitu sebesar 1,1%. Hasil pada penelitian pendahuluan dengan membandingkan 5%, 10%, 15% penambahan bakteri menunjukkan bahwa persentase penambahan bakteri yang paling baik adalah pada penambahan 15%. Hasil perhitungan dan foto koloni bakteri pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 5 dan Lampiran 6.

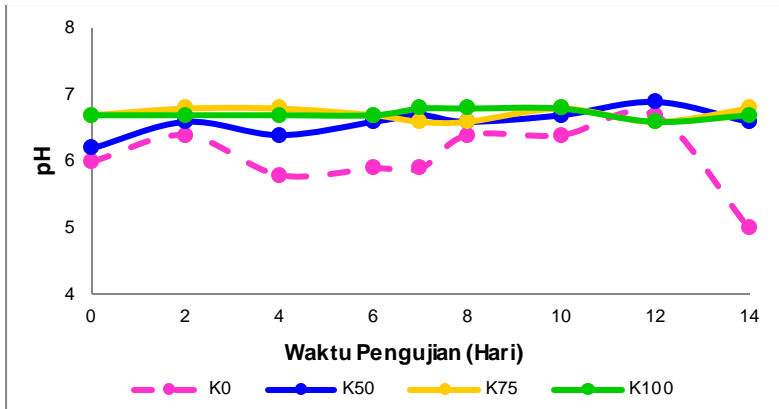
#### **4.2 Penyisihan Logam Kromium dalam Sampel**

Uji penyisihan logam kromium ini merupakan penelitian utama. Penyisihan logam kromium ini dipengaruhi oleh variabel variasi konsentrasi kromium dan variasi persentase penambahan volume bakteri terhadap % penyisihan logam kromium. Variasi konsentrasi kromium yang digunakan adalah 50, 75, 100, dan 0 mg/L setara dengan 19, 29, 38, dan 0 mg/kg kromium teoritis sebagai kontrol. Berdasarkan uji pendahuluan di dapatkan persentase jumlah penambahan volume bakteri yaitu sebesar 15%, sehingga

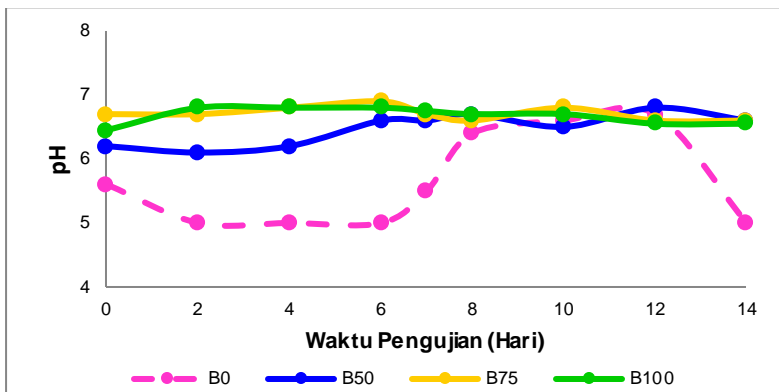
pada variable variasi persentase penambahan volume bakteri yang digunakan adalah tanpa penambahan bakteri dan penambahan 15% bakteri *Bacillus subtilis* dari volume *bulk density* tanah. Metode yang digunakan pada tahap uji penyisihan logam berat kromium mengacu pada Hardiani, dkk (2011) yang telah disesuaikan. Parameter yang diuji pada tahap ini adalah pH, suhu, kelembaban, total kromium dan jumlah koloni bakteri. Uji semua parameter dilakukan pada hari 0, 7 dan 14. Uji parameter yang lain dilakukan setiap 2 hari sekali.

#### **4.2.1 Nilai pH**

pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Uji nilai pH dilakukan dengan alat ukur pH dan *moister tester* yang dimasukkan pada reaktor secara langsung. Proses penyisihan kromium dapat berjalan maksimal pada pH optimum bakteri (Leroi, et al., 2012). Menurut Cheng (2009) pH optimum bakteri *Bacillus subtilis* berkisar pada 5 – 9. Cheng dan Li (2009) menyatakan bahwa pH larutan kromium cenderung basa. Pada data pengujian pH dapat dilihat bahwa pH pada reaktor kontrol yaitu reaktor tanpa ditambah dengan kromium menunjukkan angka yang lebih rendah pada range 4,9 – 6,9. Reaktor dengan ditambah kromium menunjukkan pH yg lebih tinggi yaitu dengan range 6,1 – 6,9. Penambahan kromium pada menyebabkan meningkatnya pH (Kurniawan, 2016). Peningkatan pH juga disebabkan oleh adanya aktifitas mikroorganisme serta penumpukan sel mati dari bakteri (Kurniawan, 2016). Hasil uji pH dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan Gambar 4.4



**Gambar 4. 3 pH pada Reaktor Tanpa Penambahan Bakteri**



**Gambar 4. 4 pH pada Reaktor dengan Penambahan 15% Bakteri**

Keterangan :

B0 = Kontrol 0 mg/L kromium + 15% bakteri

K0 = Kontrol 0 mg/L kromium + tanpa bakteri

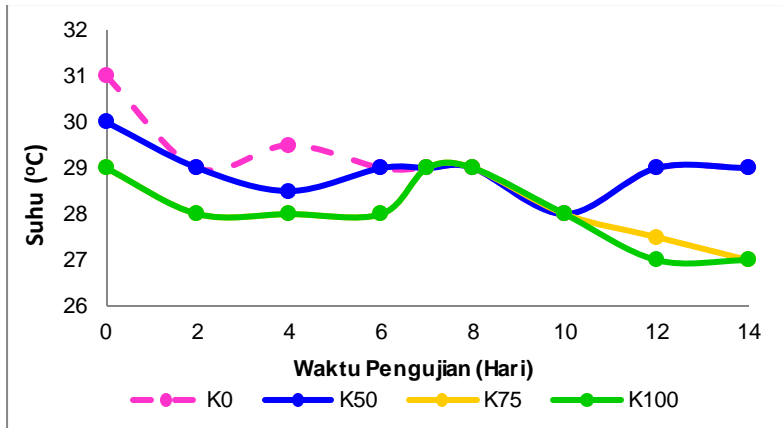
Kedua grafik menunjukkan bahwa pH pada reaktor tanpa penambahan bakteri dan reaktor dengan penambahan 15% bakteri selama waktu 14 hari berada pada range pH optimum pertumbuhan bakteri, sehingga metabolisme bakteri dapat berjalan dengan baik. Pada reaktor dengan

penambahan kromium, pH rata-rata berada dalam range 6,1-6,9. Hal ini menunjukkan nilai pH yg kurang stabil yaitu naik-turun, tetapi tetap berkisar pada angka mendekati netral atau pH 7. Naik turunnya pH diakibatkan oleh aktifitas bakteri *Bacillus subtilis* serta adanya sel-sel bakteri yang mati dalam reaktor.

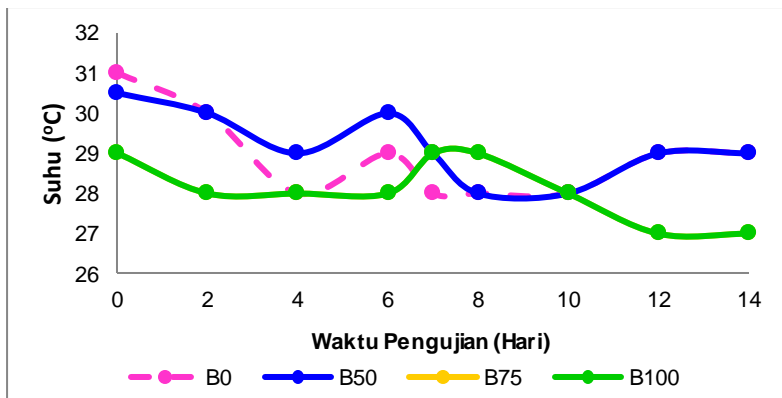
#### 4.2.2 Suhu

Pada proses penyisihan kromium oleh bakteri juga dipengaruhi oleh suhu. Suhu optimum bakteri menyebabkan penyisihan berjalan dengan maksimal karena metabolisme bakteri berjalan dengan baik (Leroi, et al., 2012). *Bakteri Bacillus subtilis* merupakan bakteri mesofilik yang memiliki suhu optimum 20 -40 °C

Hasil pengukuran suhu pada semua reaktor menunjukkan nilai yang tidak jauh berbeda pada masing-masing reaktornya. Suhu yang terukur selama 14 hari menunjukkan nilai pada range 27 – 31 °C, yang merupakan optimum bakteri untuk pertumbuhan. Suhu pada reaktor kontrol tanpa penambahan kromium menunjukkan suhu yang cukup stabil yaitu pada range 28 – 31 °C. Pada reaktor dengan penambahan kromium memiliki range suhu yang tidak jauh berbeda yaitu 27 – 31 °C. Perubahan suhu yang terjadi pada reaktor juga dipengaruhi oleh faktor suhu ruangan, karena reaktor dibiarkan terbuka.



**Gambar 4. 5 Suhu pada Reaktor Tanpa Penambahan Bakteri**



**Gambar 4. 6 Suhu pada Reaktor dengan Penambahan 15% Bakteri**

Keterangan :

B0 = Kontrol 0 mg/L kromium + 15% bakteri

K0 = Kontrol 0 mg/L kromium + tanpa bakteri

#### 4.2.3 Kelembaban

Kelembaban merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada proses penyisihan kromium oleh bakteri. Kelembaban tanah dari setiap reaktor sejak awal disetting dengan kelembaban 100%. Penelitian yang dilakukan oleh Jeyasingh et al., (2010) menunjukkan penyisihan kromium terbaik adalah pada kelembaban minimum 40% seiring dengan meningkatnya pertumbuhan jumlah bakteri. Kelembaban minimum sangat penting untuk menjaga bioavailability kromium dan memudahkan penyerapan kromium pada sel bakteri (Mrozik dan Pitrowska-Seget, 2010).

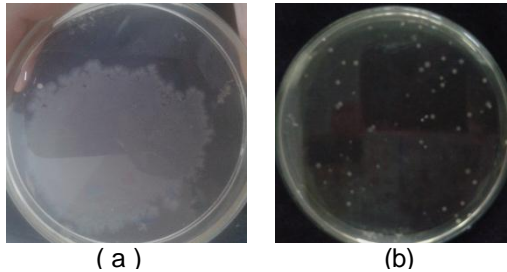
Tanah tercemar buatan pada reaktor disetting dengan kelembaban 100% dengan menyesuaikan nilai *bulk density* tanah pasir. Penambahan kromium sesuai *bulk density* dilakukan agar kromium pada fase cair tercampur secara rata pada tanah pasir. Sejak awal hingga akhir pengujian, nilai kelembaban masih berada pada nilai 100% pada semua reaktor.

#### 4.2.4 Jumlah Koloni Bakteri

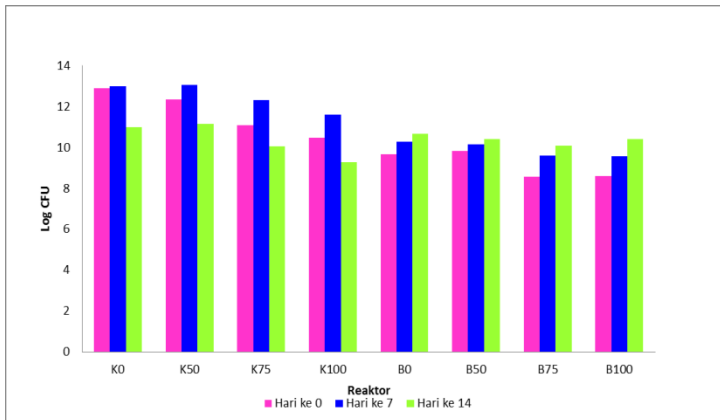
Parameter jumlah koloni bakteri digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri yang masih hidup dalam reaktor. Metode yang digunakan untuk menentukan jumlah koloni bakteri adalah metode CFU (*Colony Forming Unit*). Uji jumlah koloni bakteri dilakukan sebanyak 3 kali pada hari ke 0, 7 dan 14.

Pengenceran yang digunakan pada CFU pada hari ke-0 dan ke 7 adalah  $10^8$  untuk reaktor tanpa penambahan bakteri dan pengenceran sampai  $10^6$  untuk reaktor dengan penambahan 15% bakteri. Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang menunjukkan reaktor dengan penambahan bakteri 15% dapat dihitung pada pengenceran  $10^6$ . Pada hari ke-14 pengenceran untuk reaktor tanpa penambahan bakteri diturunkan menjadi  $10^6$ . Hal tersebut disesuaikan dengan keadaan pengujian sebelumnya yang menunjukkan penurunan pada jumlah bakteri *Bacillus subtilis* maupun bakteri tanah. Penentuan angka pengenceran didasarkan pada rentang jumlah koloni yang dapat dihitung yaitu 30-300

koloni. Bentuk koloni bakteri pasir dan bentuk koloni bakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Gambar 4.7 Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri selama 14 hari dapat dilihat pada Gambar 4.8



**Gambar 4.7 Bentuk koloni bakteri (a) Bakteri Pasir atau indogenous (b) *Bacillus subtilis***



**Gambar 4.8 Jumlah Koloni Bakteri Selama 14 hari**

Keterangan :

B0 = Kontrol 0 mg/L kromium + 15% bakteri

K0 = Kontrol 0 mg/L kromium + tanpa bakteri

Pada hari ke 0 Bakteri *indigenus* pada tanah pasir mampu bertahan cukup baik dengan penambahan kromium. Pada reaktor 15% penambahan bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan angka yang lebih rendah dibandingkan dengan reaktor tanpa penambahan bakteri. Hal tersebut dikarenakan adanya penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada reaktor menyebabkan persaingan dalam mendapatkan nutrisi dengan bakteri *indigenus* pada tanah pasir (Dhal et al., 2013). Selain itu kemungkinan sedikitnya pertumbuhan *Bacillus subtilis*, terjadi karena bakteri membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan baru (Mrozik dan Pitrowska-Seget 2010).

Pada hari ke 7 jumlah bakteri pada kedua jenis reaktor yaitu reaktor tanpa penambahan bakteri dan penambahan 15% bakteri mengalami peningkatan jumlah bakteri. Peningkatan lebih besar terjadi pada reaktor tanpa penambahan bakteri. Pada hari ke 14 Jumlah bakteri pada reaktor tanpa penambahan bakteri mengalami penurunan akan tetapi jumlah koloninya tidak lebih sedikit dari reaktor dengan penambahan 15% bakteri. Penurunan jumlah koloni dimungkinkan diakibatkan oleh menurunnya jumlah nutrisi pada tanah (Mrozik dan Pitrowska-Seget 2010). Jumlah bakteri *Bacillus subtilis* pada reaktor dengan penambahan 15% bakteri mengalami kenaikan jumlah koloni pada hari ke 14, hal tersebut terjadi karena bakteri *Bacillus subtilis* telah beradaptasi dan mampu hidup dengan cukup baik. Peningkatan jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* paling besar terjadi pada reaktor B50 yaitu pada konsentrasi penambahan kromium paling rendah.

#### **4.2.5 Total Kromium**

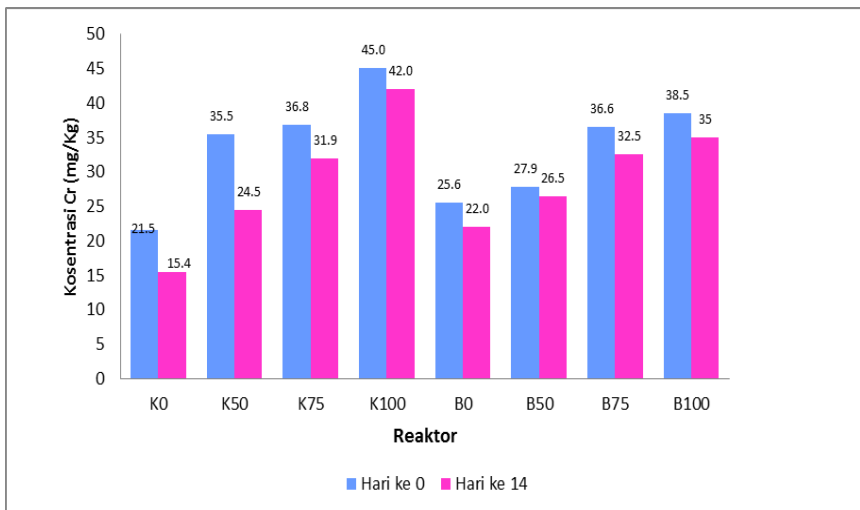
Parameter total kromium diuji sebanyak 2 kali, yaitu di awal dan di akhir waktu penelitian selama 14 hari untuk mengetahui persentase penyisihan total kromium. Metode yang digunakan untuk perhitungan total kromium adalah dengan melakukan destruksi tanah menggunakan asam kuat (*aqua regia*) kemudian diukur konsentrasi total kromiumnya



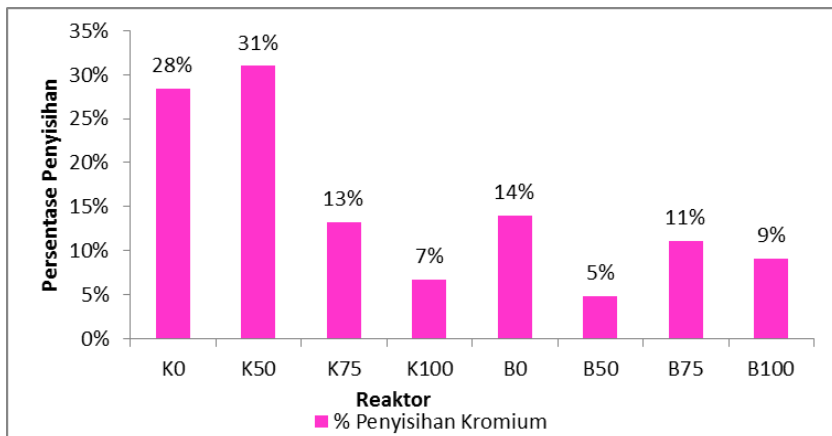
menggunakan AAS. Hasil analisis total kromium dapat dilihat pada Tabel 4.1, Gambar 4.9 dan Gambar 4.10.

**Tabel 4.1 Persentase Penyisihan Kromium**

Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/kg)	Konsentrasi Akhir (mg/kg)	%Penyisihan
<b>K0</b>	21.5	15.4	28%
<b>K50</b>	35.5	24.5	31%
<b>K75</b>	36.8	31.9	13%
<b>K100</b>	45.0	42.0	7%
<b>B0</b>	25.6	22.0	14%
<b>B50</b>	27.9	26.5	5%
<b>B75</b>	36.6	32.5	11%
<b>B100</b>	38.5	35	9%



**Gambar 4.9 Konsentrasi Kromium**



**Gambar 4. 10 Persentase Penyisihan Kromium**

Keterangan :

B0 = Kontrol 0 mg/L kromium + 15% bakteri

K0 = Kontrol 0 mg/L kromium + tanpa bakteri

Hasil pengukuran konsentrasi total kromium pada Gambar 4.9 menunjukkan hasil pengukuran awal dan akhir total kromium, dimana pada reaktor kontrol juga terukur konsentrasi kromium dengan nilai yang paling rendah yaitu pada reaktor K0 21,5 mg/kg dan pada reaktor B0 25,6 mg/kg. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanah pasir yang digunakan pada penelitian ini mengandung kromium. Hal ini juga dijumpai pada penelitian yang dilakukan oleh Said dkk. (2009) bahwa sedimen pasir sungai yang diteliti di Sulawesi mengandung kromium sebesar 10,4-62 mg/kg sehingga memungkinkan bahwa pasir yang digunakan sebagai *spiked soil* mengandung kromium. Konsentrasi kromium pada reaktor yang ditambahkan kromium memiliki nilai total kromium yang tidak jauh berbeda dari reaktor kontrol. Besarnya nilai konsentrasi logam yang terukur pada tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor yang mempengaruhi bioavailability logam pada tanah seperti pH, organik material dan aktifitas enzim pada tanah (Xian, et al., 2015). Pada reaktor kontrol terjadi penyisihan kromium yang berbeda yaitu 28% untuk reaktor


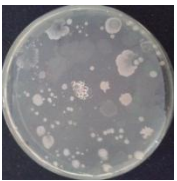
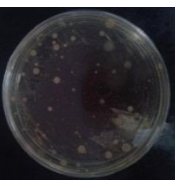
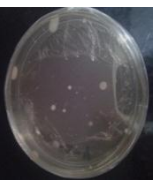
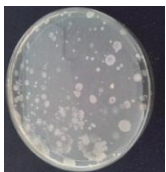
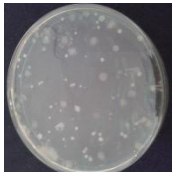
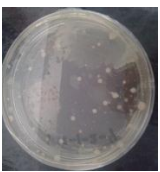

kontrol tanpa penambahan bakteri dan 14% untuk reaktor kontrol dengan penambahan 15% bakteri.

Persentase penyisihan logam kromium dapat dilihat pada Gambar 4.10. Penyisihan kromium tertinggi pada reaktor tanpa penambahan bakteri terjadi pada reaktor K50 yaitu reaktor dengan persentase penyisihan kromium sebesar 31% dari konsentrasi kromium 35,5 mg/kg menjadi 24,5 mg/kg. Penyisihan kromium tertinggi pada reaktor dengan penambahan 15% bakteri terjadi pada reaktor B75 yaitu reaktor dengan persentase penyisihan kromium sebesar 11% dari konsentrasi 36,6 mg/kg menjadi 32,5 mg/kg.

Ditemukan hubungan antara besarnya penyisihan kromium dengan jumlah koloni bakteri pada reaktor pada hari ke 0 dan hari ke 14. Kemampuan penyisihan kromium yang terjadi pada masing-masing reaktor dipengaruhi dengan keberadaan bakteri tanah. Penyisihan kromium yang terjadi pada reaktor tanpa penambahan bakteri dilakukan oleh bakteri tanah.

Penyisihan kromium yang terjadi pada reaktor dengan penambahan 15% terbaik terjadi pada B75. Namun pada reaktor B50 terjadi penyisihan kromium yang paling kecil. Hal tersebut jika dihubungkan dengan jumlah koloni bakteri pada hari ke 14 akan berhubungan dengan jumlah koloni bakteri *Bacillus subtilis* dan jumlah bakteri tanah yang ada pada reaktor, sehingga dapat diketahui penyisihan kromium lebih besar dilakukan oleh bakteri tanah. Pada perhitungan jumlah bakteri untuk reaktor dengan penambahan 15% bakteri dilakukan hanya pada perhitungan koloni yang mirip dengan *Bacillus subtilis*, akan tetapi jika diamati pada hasil CFU, pada reaktor terdapat banyak bakteri tanah. Jika dibandingkan keberadaan bakteri tanah dengan bakteri *Bacillus subtilis*, maka didapatkan bahwa pada reaktor B75 memiliki jumlah bakteri *Bacillus subtilis* dan bakteri yang tanah cukup besar. Jumlah koloni bakteri pada hari ke 14 uji CFU dapat dilihat pada Tabel 4.2

**Tabel 4. 2 Hasil Uji Colony Forming Unit Hari ke 14**

K0	K50	K75	K100
			
B0	B50	B75	B100
			

Jumlah bakteri *Bacillus subtilis* pada reaktor B75 terlihat cukup banyak bakteri tanah. Pada perbandingan besar penyisihan bakteri dapat dilihat bahwa peran bakteri tanah dalam penyisihan kromium lebih besar. Besarnya peran bakteri tanah sesuai dengan hasil penyisihan kromium pada reaktor tanpa penambahan bakteri yang menunjukkan bahwa bakteri *indigenous* memiliki kemampuan untuk penyisihan lebih baik. Efektifitas bioaugmentasi dipengaruhi beberapa faktor salah satunya bakteri yang ditambahkan telah mampu bertahan hidup ketika diperkenalkan dengan lingkungan tercemar (Mrozik dan Pitrowska-Seget, 2010). Bakteri yang ditambah pada penyisihan ini merupakan bakteri *Bacillus subtilis* dari laboratorium, bukan hasil isolasi dari daerah tercemar. Sehingga kemampuan bakteri *indogenous* memiliki kemampuan penyisihan lebih baik, dimana pasir yang digunakan juga memiliki kandungan kromium (Mrozik dan Pitrowska-Seget, 2010).

Persentase penyisihan masing-masing reaktor memiliki tren yang berbeda. Jika dibandingkan dari dua jenis reaktor persentase penyisihan lebih baik terjadi pada reaktor tanpa

penambahan bakteri. Penambahan 15% bakteri pada reaktor tidak memberikan peningkatan efisiensi penyisihan kromium. Tidak didapatkannya peningkatan efisiensi penyisihan kromium pada reaktor dengan penambahan 15% bakteri *Bacillus subtilis* dapat disebabkan beberapa hal yaitu,

1. Sifat Cr(III) yang kurang toksik menyebabkan kurangnya impermeabilitas pada membrane sel, sehingga Cr(III) kurang soluble dan tidak dapat terpresipitasi atau tersisihkan (Dhal et al, 2013).
2. Bakteri *Bacillus subtilis* mampu melakukan penyisihan dengan biosorpsi kromium dalam bentuk  $\text{Cr}^{6+}$  sehingga hanya kromium yang teroksidasi dalam tanah yang mampu diserap oleh bakteri *Bacillus subtilis* (Kanmani, et al. 2011)
3. Terjadinya kompetisi antara bakteri *Bacillus subtilis* dengan bakteri tanah (*bacteria community*) dalam mencukupi kebutuhan nutrisi, sehingga jumlah bakteri *Bacillus subtilis* lebih sedikit dibandingkan bakteri tanah dalam waktu 14 hari (Mrozik dan Pitrowska-Seget 2010).

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Persentase penyisihan kromium selama 14 hari pada reaktor tanpa penambahan bakteri *Bacillus subtilis* terbesar adalah 31% pada reaktor dengan konsentrasi kromium 50 mg/L (19 mg/kg). Penyisihan kromium terbesar pada reaktor dengan penambahan 15% bakteri *Bacillus subtilis* adalah 11% pada reaktor dengan konsentrasi kromium 75 mg/L (29 mg/kg).
2. Penambahan bakteri *Bacillus subtilis* pada tanah tercemar kromium selama 14 hari tidak berpotensi meningkatkan efisiensi penyisihan kromium dibuktikan dengan penyisihan kromium yang lebih kecil yaitu 11%.

#### 5.2 Saran

Beberapa saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya berdasarkan hasil penelitian terkait uji penyisihan logam kromium pada tanah menggunakan bakteri *Bacillus subtilis*, adalah sebagai berikut

1. Diperlukannya penambahan nutrisi pada reaktor untuk meminimalisasi persaingan bakteri pada pemenuhan nutrisi bakteri untuk bertahan hidup
2. Diperlukannya aklimatisasi bakteri *Bacillus subtilis* pada media tercemar kromium sebelum digunakan pada uji penyisihan kromium. Hal tersebut dilakukan agar bakteri *Bacillus subtilis* dapat menyesuaikan diri dengan cepat saat uji penyisihan kromium.
3. Diperlukannya reaktor kontrol menggunakan tanah yang telah disterilisasi untuk mengetahui kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* pada penyisihan kromium tanpa dipengaruhi oleh bakteri indogeneus yang ada pada tanah

**Halaman ini sengaja dikosongkan**



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahemad, M.2012.*Impactions of Bacterial Resistance Against Heavy Metals in Bioremediation:A Review*.ILOAB Journal.3(3):39-46
- Ahirwar, N.K., Gupta, G., Singh, V.2013.Biodegradation of Chromium Contaminated Soil by Some Bacteria Species.International Journal of Science and Research (IJSR).ISSN (Online):2319-7064
- America Type Culture Collection.2009.*Bacillus subtilis subsp. Spizizenii*.ISO:34
- Apte, A.D., Verma, S., Tare, V., and Bose, P.2005.*Oxidation of Cr(III) in Tannery Sludge to Cr(VI):Field Observation and Theoretical Assessment*. Journal Hazard Matter 121 (1-3) : 215-222
- Arinda, T.2013.*Tingkat Resistensi Merkuri dan Variasi Fragmen Genom Bakteri Bacillus dari Kali Mas Surabaya*.Tugas Akhir-Jurusan Biologi, FMIPA,ITS
- Awudainayagam, S., Megharaj, M., Owens, G., Kookana, R.S., Chittleborough, D., Naidu, R.2003.*Chemistry of chromium in soils with emphasis on tannery waste sites*, Rev. Environ. Contam. T. 178:53–91.
- Chandra, P., *Chromium Accumulation and Toxicity in Aquatic Vascular Plants*.2004. Bot. Rev. 70(3):303–327.
- Cheng, G., dan Li, X. 2009. *Bioreduction of Chromium (VI) by Bacillus sp. Isolated from Soils of Iron Mineral Area*. Journal of Soil Biology. 45(5):483-487
- Deepali.2011. *Bioremediation of Chromium (VI) from Textile Industry's Effluent and Contaminated Soil Using Pseudomonas putida*.Journal of Energy & Environment. 2(1):24-31

Dhal, B., Thatoi, H.N., Ds, N.N., and Pandey, B.D.2013. *Chemical and Microbial Remediation of Hexavalent Chromium Contaminated Soil and Mining/Metalurgical Solid Waste:A Review*.Journal of Hazardous Material. 250-251 : 272-291

Elangovan, R., Abhipsa, S., Rohit, B. *Cr (VI) Reduction by Bacillus sp. Isolated from Chromium Landfill*. Process.Biochem.4(9):1981-1986

Evelyn, J. R., Ravisankar, V. 2014. *Bioremediation of Chromium Contamination – A Review*. Journal of Research in Earth & Environmental Science. 1(6) : 20-26

Hardiani, H., Kardiansyah, T., dan Sugesty, S.2011.*Bioremediasi Logam Timbal (Pb) dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking*.Jurnal Selulosa. 1(1):31-41

James, B.R.2001.*Remediation by Reduction Strategies for Chromate Contaminated Soils*.Environ.Geochem.Health. 23:175-179

James, B.R.2002.*Chemical Transformation of Chromium in Soils: Relevance to Mobility, Bio-availability and Remediation*. In: The Chromium File. Inter. Chromium Dev.Assoc.Paris.PP 1-8

Jeyasingh, J., Sosmasundaram, V., Philip, L., Bhallamudi, S.M. 2010. *Bioremediation of Cr(VI) Contaminated Soil/Sludge:Experiment Development of a Management Model*. Journal of Chemical Engineering. 160(1) 556-564

Jeyasingh, J. dan Philip, L. 2005. *Bioremediation of Chromium Contaminated Soil: Optimization of Operating Parameters Under Laboratory Conditions*. Journal of Hazardous Materials, 118 (1-3), hal 113-120

Kanmani, P.,Aravind, J., Preston, D. 2012.*A Review Remediation of Chromium Contaminants Using Bacteria*.International Journal Science Technologi. 9 :183-193

Kathiravan, M.N.m Kathick, R., and Muthukumar, K.2011.*Ex situ Bioremediation of Cr (VI) Contaminated Soil by Bacillus sp.:Batch and Continous Studies*.Chemical Engineering Journal. 160:107-115

Kubyshkina, G., Zupancic, B., Stukelj, M., Grosel, D., Marion, L., and Emri, I. 2011. *The Insfluence of Different Steriliztion Technique on the Time Dependent Behavior of Polymides*. Journal of Biomaterial and Nanotechnology 2(1) : 361-368

Kurniawan, S.B. 2016. *Uji Kemampuan Bakteri Baciullus subtilis dan Pseudomonas putida pada Penyisihan Trivalent Chromium pada Limbah Cair*. Tugas Akhir-Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS Surabaya

Leroi, F., Fall, P.A., Pilet, M.F., Chevalier, F., Baron, R.2012.*Influence of Temperature, pH and NaCl Concentration on the Maximal Growth Rate of Brochonthrinx Thermosphacta and a Bioprotective Bacteria Lactococcus Piscium CNCM I-4031 Food Microbiology*. 31(2):222-228

Machmud, M. 2001. *Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba*. Buletin Agrobio 4(1) : 24-32

Mahimairaja, Santiago, Shenbagavali, S., dan Naidu, R.2011.*Remediation of Chromium-Contaminated Soil due to Tannery Waste Disposal : Potential for Phyto and Bioremediation*. Japanese society of Pedology. 54 (3):175-181

Ministry of State for Population and Environmental of Indonesia dan Dalhousie, University Canada. 1992. *Environmental Management in Indonesia*. Report of Soil Quality Standars for Indonesia.

Mishra, V., Smantaray, D.P., Dash., S.K., Mishra, B.B., dan Swain., R.K.2010. *Study on Hexavalent Chromium Reduction by Chromium Resistant Bacterial Isolates of Sukinda Mining Area*.Our Nature \* : 63-71

Morikawa, M., Kagihiro, S., Haniki, M., Takano, K., Branda, S., Kolter, R. and Kanaya, S. 2006. *Biofilm Formation by a Bacillus subtilis Strain that Produce g – Polyglutamate*. Journal Microbiology. 152 :2801-2807

Mrozika, A., Piotowska-Segets, Z. 2010. *Bioaugmentasi as a Strategy for Cleaning up of Soils Contaminated with Aromatic Compounds*. Microbiological Research 165 : 363—375

Mythili, K. dan Karthikeyan, B. 2011. *Bioremediation of Cr (VI) from Tannery Effluent Using Bacillus sp and Staphylococcus sp*. International Multidisciplinary Research Journal. 1(6): 38-4

Nath, J., Ray, L. 2015. *Biosorption of Malachite Green from Aqueous Solution by Dry Cells of Bacillus cereus M1 16 (MTCC 5521)*. Journal of Environmental Chemical Engineering. 3(1):386-394

Notodarmojo, S. 2005. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*. Bandung : Penerbit ITB

Oves, M., Khan, M.S., dan Zaidi, A. 2013. *Chromium Reducing and Plant Growth Promoting Novel Strain Pseudomonas aeruginosa OSG41 Enhance Chickpea Growth in Chromium Amended Soils*. European Journal of Soil Biology. 56(1):72-83

Purwanti, I. F., Rozimah, S., Abdullah, S., Hamzah, A., Idris, M., Basri, H., Mukhlisin, M. and Latif, M.T. 2015. *Biodegradation of Diesel by Bacteria Isolated from Sci us mucronatus Rhizosphere in Diesel-Contaminated Sand*. Journal of Advance Science 1 (2); 140-143

Said, I., Jalaluddi, M.N., Upe, A., Wahab, A.W. 2009. *Penetapan Konsentrasi Logam Berat Krom dan Timbal dalam Sedimen Estuaria Sungai Matangpondo Palu*. Jurnal Chemica. (10) 40-47

Shangguan, Y., Zhao, L., Qin, Y., Hou, H., dan Zhang, N. 2016. *Antimony Release from Contaminated Mine Soils and Its*

*Migration in Four Typical Soils Using Lysimeter Experiments.* Ecotoxicology and Environmental Safety. (133):1-9

Singh, Y. dan Lal, N. *Investigation on The Heavy Metal Resistant Bacterial Isolates in Vitro from Industrial Effluent.* Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science.4(2):343-350

Srinath, Verma, T., Ramteke, P.W. and Garg, S.K.2002.*Chromium (VI) Biosorption and Bioaccumulation by Chromate Resistant Bacteria.*Tannery Technology, 48(4):425-435

Tukura, B. W., Usman, N. L., dan Mohammed, H. B. 2013. *Aqua Regia and Ethylenediaminetetracetic Acid (EDTA) Trace Metal Levels in Agricultural Soil.* Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, 5 (11), hal 284-291.

Triatmojo, S., Sihombing, D.T.H., Djojowidagdo, S., dan Wiradarya, T.R.2001. *Biosorpsi dan Reduksi Krom Limbah Penyamakan Kulit dengan Biomassa Fusarium sp dan Aspergillus niger.*Manusia dan Lingkungan.8(2):70-81

Trihadiningrum, Y.2012.*Mikrobiologi Lingkungan.*Surabaya: ITS Press

Xian, Y., Wang, M., dan Chen, W.2015.*Quantitative Assesment on Soil Enzyme Activities of Heavy Metal Contaminated Soils with Various Soil Properties.* Chemosphere 139 : 604-608

Zheng, Z., Li, Y., Zhang, X. Liu, P., Ren, J., Wu, G., Zhang, Y., Chen, Y., dan Li, X. 2015. *A Bacillus subtilis Strain Can Reduce Hexavalent Chromium to Trivalent and Nfra Gene is Involved.*

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## **Lampiran 1 Tahap Peremajaan Isolate Bakteri**

1. Bakteri induk, media NA agar miring dan semua peralatan inokulasi disiapkan sebelum dilakukan proses peremajaan.
2. Jarum ose yang akan digunakan dipanaskan hingga membara kemudian didinginkan dengan cara diangin-anginkan.
3. Penutup tabung dibuka kemudian dilewatkan pada api sebanyak 2 kali.
4. Diambil satu ose bakteri induk dengan cara menggores ose pada bakteri induk.
5. Setelah selesai, mulut tabung dilewatkan pada api 2 kali dan ditutup kembali dengan kapas lemak.
6. Penutup tabung NA agar miring dibuka, kemudian mulut tabung dilewatkan api sebanyak 2 kali.
7. Jarum ose yang sudah mengandung bakteri dioleskan secara zig-zag pada media NA agar miring dimulai dari dasar tabung.
8. Setelah selesai, mulut tabung dilewatkan pada api 2 kali dan ditutup kembali dengan kapas lemak.
9. Semua perlakuan 1-8 harus dilakukan pada kondisi aseptik agar tidak terjadi kontaminasi yaitu dekat dengan api (maksimum 20 cm dari api)
10. Jarum ose dipanaskan hingga membara untuk membunuh semua bakteri yang menempel.
11. Tabung NA agar miring yang telah diinokulasikan bakteri disimpan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.
12. Setelah 24 jam, bakteri siap digunakan untuk penelitian

**Halaman ini sengaja dikosongkan**



## Lampiran 2 Tahap persiapan reaktor uji dan pelaksanaan penelitian

1. Penyiapan bakteri untuk uji penyisihan kromium
  - a. Bakteri berumur 24 jam pada media agar miring NA diambil sebanyak 2 ose.
  - b. Bakteri pada ose dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer volume 250 mL yang berisi media NB sebanyak 100 mL (Deepali, 2011).
  - c. Jika bakteri masih terlihat menggumpal, dilakukan pengadukan secara manual dengan cara menggoyangkan labu Erlenmeyer.
  - d. Labu Erlenmeyer yang berisi bakteri *dishaker* selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm.
  - e. Setelah *dishaker* 24 jam, media NB berisi bakteri diambil sebanyak 100 mL dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi
  - f. Dilakukan proses sentrifugasi selama 10 menit dengan putaran sebanyak 4000 rpm (Purwanti et al., 2015)
  - g. Supernatan yang tidak mengandung bakteri dibuang dari tabung sentrifugasi
  - h. Lalu palet bakteri yang ada didasar tabung sentrifugasi dicuci menggunakan air salin (8.5% NaCl steril) sebanyak 2 kali. Setelah itu palet bakteri ditambah dengan air salin sesuai kebutuhan.
  - i. Pengukuran *trial and error* nilai OD dilakukan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Apabila nilai OD bakteri telah lebih dari 0,5 (Purwanti et al., 2015) maka bakteri siap ditambahkan pada reaktor uji.
  - j. Perlakuan poin a dan b harus dilakukan secara aseptik agar tidak terjadi kontaminasi.
2. Reaktor disetting dengan volume total 400 ml telah terisi dengan tanah pasir sekitar 300 gram (sesuai perhitungan *bulk density* dan penambahan volume kromium), X% volume bakteri dan volume larutan kromium (100-X)%.
3. Larutan stok kromium diencerkan sesuai dengan variasi konsentrasi pada Tabel 3.1.

4. Larutan kromium dengan konsentrasi yang telah ditentukan, dimasukkan ke dalam reaktor uji sesuai dengan nilai *bulk density* tanah pasir agar mencapai 400 ml.
5. Bakteri yang telah berumur 24 jam di media NB dan memiliki nilai OD lebih dari 0,5 ditambahkan ke dalam reaktor uji sesuai dengan Tabel 3.1.
6. Uji penyisihan kromium dilakukan selama 14 hari dengan proses pengadukan tanah setiap hari. Pengujian total kromium dilakukan 2 kali di awal dan akhir.
7. Parameter pH, suhu, dan kelembaban tanah diuji setiap 2 hari sekali.
8. Parameter jumlah koloni bakteri akan diuji sebanyak 3 kali, yaitu di awal, tengah, dan akhir proses bioremediasi dengan metode CFU.

### Lampiran 3 Ekstraksi Pencemar Inorganik dalam Media Tanah

Menurut Tukura et al. (2013), beberapa tahapan yang dilakukan pada ekstraksi zat pencemar inkubator dalam media tanah, antara lain:

1. Penyiapan larutan *aqua regia*
  - a. Disiapkan larutan HCl 37% atau 11,96 M sebanyak 1000 mL
  - b. Disiapkan larutan HNO<sub>3</sub> 70% atau 16,52 M sebanyak 1000 mL
  - c. Larutan HCl 37% dan HNO<sub>3</sub> 70% dicampur dengan perbandingan dalam v/v sebesar 3:1. Dalam 1000 mL larutan *aqua regia* terdapat 750 mL larutan HCl dan 250 mL larutan HNO<sub>3</sub>.
  - d. Larutan *aqua regia* siap digunakan untuk ekstraksi zat 57ncubator.
2. Tanah tercemar kromium diambil sebanyak 1 gram dengan spatula dan dimasukkan labu Erlenmeyer.
3. Ditambahkan larutan *aqua regia* ke dalam labu Erlenmeyer sebanyak 28 mL.
4. Campuran sampel tanah tercemar dan larutan *aqua regia* didiamkan selama 24 jam.
5. Campuran sampel tanah tercemar dan larutan *aqua regia* dipanaskan dengan kompor listrik bersuhu 140°C sampai 57ncuba kering.
6. Ditambahkan aquades sampai volume larutan 20 mL, kemudian sampel disaring dengan kertas saring.
7. Larutan hasil proses penyaringan diencerkan dengan aquades sampai volume 50 mL menggunakan labu ukur.
8. Larutan hasil proses ekstraksi siap untuk dianalisis konsentrasi total kromiumnya dengan menggunakan metode AAS.

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

#### **Lampiran 4 Tahap uji *Colony Forming Unit***

1. Tanah tercemar berisi bakteri, media NB, media NA, air salin, dan peralatan yang dibutuhkan disiapkan sebelum uji jumlah koloni bakteri.
2. Tanah tercemar dari reaktor uji diambil sebanyak 10 gram dengan spatula.
3. Tanah tercemar dari reaktor uji dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi media NB 100 mL.
4. Labu Erlenmeyer berisi media NB dan tanah tercemar di*shaker* selama 1 jam dengan kecepatan 150 rpm.
5. Media NB berisi bakteri di labu Erlenmeyer diambil sebanyak 1 mL dengan pipet ukur steril.
6. Media NB berisi bakteri sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi air salin.
7. Tabung reaksi berisi air salin dan bakteri dikocok hingga 59ncubato.
8. Dilakukan pengenceran berulang pada air salin berisi bakteri seperti pada tahap 5-7 sebanyak 6 kali.
9. Cawan petri disterilkan dengan melewati bagian tepi cawan pada api sebanyak 2 kali .
10. Air salin berisi bakteri pada pengenceran terakhir dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 0,1 mL dengan pipet ukur steril.
11. Agar cair NA dimasukkan ke dalam cawan petri berisi bakteri, kemudian diratakan dan ditunggu sampai agar NA memadat.
12. Setelah agar NA memadat, bagian tepi cawan dilewatkan api 59ncuba sebanyak 2 kali.
13. Perlakuan 3-12 harus dilakukan secara aseptik, yaitu berada di dekat api (maksimum berjarak 20 cm dari api) agar tidak terjadi kontaminasi.
14. Cawan petri dibungkus kertas coklat dan direkatkan dengan karet gelang.
15. Cawan petri berisi bakteri diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu sekitar 37°C.
16. Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan jumlah koloni bakteri yang muncul pada media agar NA.

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## Lampiran 5 Data hasil penelitian

### 1. Uji Pendahuluan (Nilai CFU)

Tabel L. 1 Hasil perhitungan CFU penelitian pendahuluan

Hari ke-	Reaktor				
	KP	B0	B5	B10	B15
0	10,10	9,30	10,29	11,00	11,33
24	10,53	8,59	9,49	9,57	11,46

Keterangan:

- KP = Reaktor kontrol pasir tanpa penambahan
- B0 = Reaktor kontrol tanpa penambahan bakteri
- B5 = Reaktor dengan penambahan bakteri 5%
- B10 = Reaktor dengan penambahan bakteri 10%
- B15 = Reaktor dengan penambahan bakteri 15%

Contoh perhitungan:

- Jumlah koloni B0 jam ke 24 = 39
- Pengenceran  $10^{-4}$
- Volume = 0,1 mL
- Jumlah koloni bakteri (n)

$$n = \frac{\text{jumlah koloni teramati}}{\text{volume sampel}} \times \frac{1}{\text{angka pengenceran}}$$

$$= \frac{39 \text{ koloni}}{0,1 \text{ mL}} \times \frac{1}{10^{-3}} = 39 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$$

$$N = \text{jumlah koloni bakteri per mL} \times \frac{\text{volume reaktor}}{\text{massa sampel tanah}}$$

$$= 39 \times 10^4 \text{ koloni/mL} \times \frac{100 \text{ mL}}{10,0049 \text{ gram}} \times 100 \text{ gram}$$




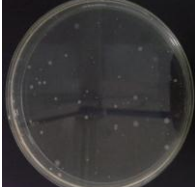
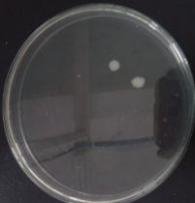


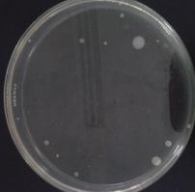

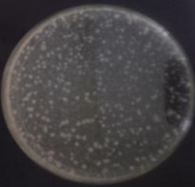
$$= 8,59 \text{ CFU/gram}$$

**Halaman ini sengaja dikosongkan**



## Lampiran 6 Hasil Analisis CFU Penelitian Pendahuluan









Tabel L. 2 Foto hasil uji CFU pada penelitian pendahuluan

Reaktor	Jam ke-0		Jam ke-24	
KP				
B0				
B5				
B10				
B15				

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## Lampiran 7 Reaktor Uji Penelitian Utama


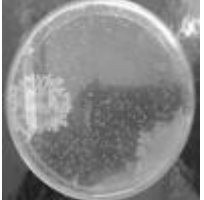


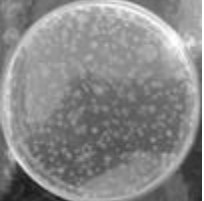
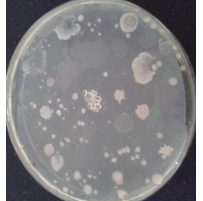

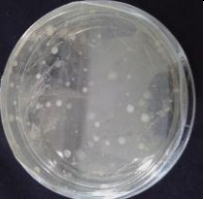
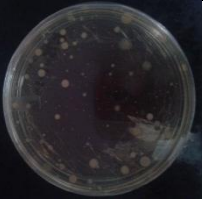

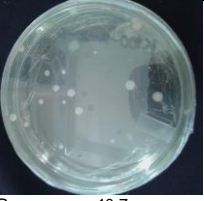
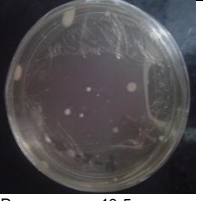
Tabel L. 3 Foto reaktor pada uji penelitian utama



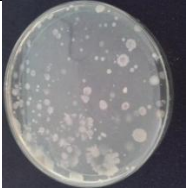
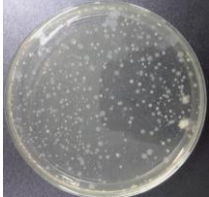


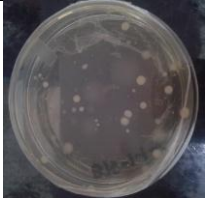
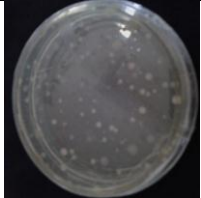
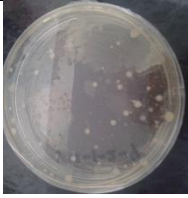
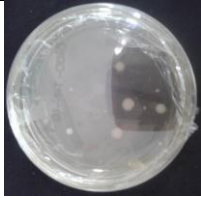
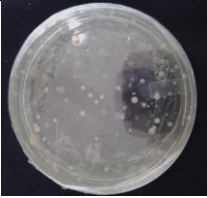

	
<b>Reaktor K0</b>	<b>Reaktor B0</b>
	
<b>Reaktor K50</b>	<b>Reaktor B50</b>
	
<b>Reaktor K75</b>	<b>Reaktor B75</b>
	
<b>Reaktor K100</b>	<b>Reaktor B100</b>

**Halaman ini sengaja dikosongkan**

## Lampiran 8 Hasil Analisis CFU Penelitian Utama

Tabel L. 4 Foto hasil uji CFU pada penelitian utama

Reaktor	Awal	Tengah	Akhir
K0	 Pengenceran 10-7	 Pengenceran 10-7	 Pengenceran 10-5
K50	 Pengenceran 10-7	 Pengenceran 10-7	 Pengenceran 10-6
K75	 Pengenceran 10-6	 Pengenceran 10-7	 Pengenceran 10-5
K100	 Pengenceran 10-6	 Pengenceran 10-7	 Pengenceran 10-5

Reaktor	Awal	Tengah	Akhir
<b>B0</b>	 Pengenceran 10-4	 Pengenceran 10-5	 Pengenceran 10-5)
<b>B50</b>	 Pengenceran 10-4	 Pengenceran 10-5	 Pengenceran 10-5
<b>B75</b>	 Pengenceran 10-4	 Pengenceran 10-4	 Pengenceran 10-6
<b>B100</b>	 Pengenceran 10-4	 Pengenceran 10-4	 Pengenceran 10-5

## Lampiran 9 Data hasil perhitungan penelitian utama

### 1. Uji Parameter pH

**Tabel L. 5 Hasil uji parameter pH**

Hari ke-	0% Penambahan Bakteri				15% Penambahan Bakteri			
	K0	K50	K75	K100	B0	B50	B75	B100
0	6,0	6,2	6,7	6,7	5,6	6,2	6,7	6,5
2	6,4	6,6	6,8	6,7	5,0	6,1	6,7	6,8
4	5,8	6,4	6,8	6,7	5,0	6,2	6,8	6,8
6	5,9	6,6	6,7	6,7	5,0	6,6	6,9	6,8
7	5,9	6,7	6,6	6,8	5,5	6,6	6,7	6,8
8	6,4	6,6	6,6	6,8	6,4	6,7	6,6	6,7
10	6,4	6,7	6,8	6,8	6,6	6,5	6,8	6,7
12	6,7	6,9	6,6	6,6	6,7	6,8	6,6	6,6
14	5,0	6,6	6,8	6,7	5,0	6,6	6,6	6,6

### 2. Uji Parameter Suhu

**Tabel L. 6 Hasil uji parameter suhu**

Hari ke-	0% Penambahan Bakteri				15% Penambahan Bakteri			
	K0	K50	K75	K100	B0	B50	B75	B100
0	31	30	29	29	31	31	29	29
2	29	29	28	28	30	30	28	28
4	30	29	28	28	28	29	28	28
6	29	29	28	28	29	30	28	28
7	29	29	29	29	28	29	29	29
8	29	29	29	29	28	28	29	29
10	28	28	28	28	28	28	28	28
12	29	29	28	27	29	29	27	27
14	29	29	27	27	29	29	27	27

### 3. Uji Jumlah Koloni Bakteri (Nilai CFU)

**Tabel L. 7 Hasil perhitungan jumlah koloni pada penelitian utama**

Hari ke-	0% Penambahan Bakteri				15% Penambahan Bakteri			
	K0	K50	K75	K100	B0	B50	B75	B100
0	12,90	12,34	11,08	10,47	9,68	9,83	8,56	8,61
7	13,01	13,05	12,33	11,61	10,28	10,13	9,60	9,56
14	10,99	11,13	10,04	9,28	10,66	10,40	10,09	10,41

- Jumlah koloni B0 jam ke 0 = 112
- Pengenceran  $10^{-4}$
- Volume = 0,1 mL
- Jumlah koloni bakteri (n)

$$n = \frac{\text{jumlah koloni teramati}}{\text{volume sampel}} \times \frac{1}{\text{angka pengenceran}}$$

$$= \frac{112 \text{ koloni}}{0,1 \text{ mL}} \times \frac{1}{10^{-3}} = 112 \times 10^4 \text{ CFU/mL}$$

$$N = \text{jumlah koloni bakteri per mL} \times \frac{\text{volume reaktor}}{\text{massa sampel tanah}}$$

$$= 112 \times 10^4 \text{ koloni/mL} \times \frac{100 \text{ mL}}{10 \text{ gram}} \times 425 \text{ gram}$$

$$= 9,68 \text{ CFU/gram}$$



#### 4. Uji Total Kromium

1) Hasil analisis kromium dengan AAS

**Tabel L. 8 Data hasil uji AAS**

Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/L)	Konsentrasi Akhir (mg/L)
K0	0,43	0,31
K50	0,71	0,49
K75	0,74	0,64
K100	0,9	0,84
B0	0,51	0,44
B50	0,56	0,53
B75	0,74	0,65
B100	0,77	0,70

2) Hasil perhitungan konsentrasi kromium

**Tabel L. 9 Hasil perhitungan persentase penyisihan kromium**

Reaktor	Konsentrasi Awal (mg/kg)	Konsentrasi Akhir (mg/kg)	%Penyisihan
K0	21,5	15,4	14%
K50	35,5	24,5	31%
K75	36,8	31,9	13%
K100	45,0	42,0	7%
B0	25,6	22,0	14%
B50	27,9	26,5	5%
B75	36,6	32,5	11%
B100	38,5	35,0	9%

#### Contoh Perhitungan Beban Pencemar Kromium

- Massa tanah terekstraksi = 1 gram
- Volume sampel hasil ekstraksi = 50 mL
- Konsentrasi kromium B0 = 0,51 mg/L
- Beban pencemar kromium B0 = 
$$\frac{\text{konsentrasi Cr} \times \text{volume larutan}}{\text{massa tanah}}$$
$$= \frac{0,51 \text{ mg/L} \times 50 \text{ mL}}{0,9971 \text{ gram}} = 25,6 \text{ mg/kg}$$

## Lampiran 10 Hasil Uji AAS

### 1. Hasil Analisis Total Kromium Awal



**JURUSAN TEKNIK KIMIA FTI - ITS**  
**TEAM AFILIASI DAN KONSULTASI INDUSTRI**  
 KAMPUS ITS, SUKOLILO - SURABAYA, TELP. (031) 5922935 FAX. (031) 5999282

#### KETERANGAN HASIL ANALISA

No.31A/LTAKI/XI/2016

Terima dari : Bapak Edy  
 Jnr. I.Lingkungan PTSP- ITS  
 Surabaya  
 Jenis contoh : Air  
 Uanalisa : Cr  
 Diterima tgl. : 2 Nopember 2016

Parameter	Hasil analisa	Methode analisa
	Cr.mg/l	
1	0.38	Cr (AAS)
2	0.63	
3	0.65	
4	0.55	
5	0.47	
6	0.44	
7	0.66	
8	0.88	
9	0.34	
10	0.45	
11	0.63	
12	0.54	
13	0.60	
14	0.54	
15	0.89	
16	0.41	
17	0.32	
18	0.34	
19	0.44	
20	0.63	
21	0.62	
22	0.64	
23	0.77	
24	0.69	

Keterangan :

\* Hasil diatas berdasarkan contoh yang kami terima



Nomor Sampel	1	2	3	4	9	10	11	12
Reaktor	K0 1	K0 2	K50 1	K50 2	B0 1	B0 2	B50 1	B50 2
Nomor Sampel	13	14	15	16	21	22	23	24
Rektor	K75 1	K75 2	K100 1	K100 2	B75 1	B75 2	B100 1	B100 2

## 2. Hasil Analisis Total Kromium Akhir



**JURUSAN TEKNIK KIMIA FTI - ITS**  
**TEAM AFILIASI DAN KONSULTASI INDUSTRI**  
 KAMPUS ITS, SUKOLILO - SURABAYA, TELP. (031) 5922935 FAX. (031) 5999282

### KETERANGAN HASIL ANALISA

No.32/L.TAKI/XI/2016

Terima dari : **Bapak Edy**  
 Jur.T.Lingkungan FTSP- ITS  
 Surabaya  
 Jenis contoh : Air  
 U.analisa : Cr  
 Diterima tgl. : 8 Nopember 2016

Kode contoh	Hasil analisa Cr .mg/l	Methode analisa
25	0,74	Cr (AAS)
26	0,58	
27	0,67	
28	0,97	
29	0,52	
30	0,30	
31	0,54	
32	0,83	
33	0,48	
34	0,44	
35	0,92	
36	0,53	
37	0,67	
38	0,77	
39	0,68	
40	0,84	
41	0,93	
42	0,98	
43	0,80	
44	0,64	
45	0,87	
46	0,65	
47	0,70	
48	0,85	

Keterangan :


- Hasil analisa tersebut diatas berdasarkan contoh yang kami terima

Surabaya, 8 Nopember 2016



Nomor Sampel	25	26	27	28	33	34	35	36
Reaktor	K0 1	K0 2	K50 1	K50 2	B0 1	B0 2	B50 1	B50 2
Nomor Sampel	37	38	39	40	45	45	47	48
Rektor	K75 1	K75 2	K100 1	K100 2	B75 1	B75 2	B100 1	B100 2

### 3. Hasil Analisis Total Kromium Pengulangan



**JURUSAN TEKNIK KIMIA FTI - ITS**

**TEAM AFILIASI DAN KONSULTASI INDUSTRI**

KAMPUS ITS, SUKOLILO - SURABAYA, TELP. (031) 5922935 FAX. (031) 5999282

---

**KETERANGAN HASIL ANALISA**


No.17A /LTAKI/XII/2016

Terima dari : **Bapk Edy**  
 Jur.T.Lingkungan FTSP- ITS  
 Surabaya

Jenis contoh : Air  
 U.analisa : Cr  
 Diterima tgl. : 8 Desember 2016

Kode contoh	Hasil analisa Cr ,mg/l	Kode contoh	Hasil analisa Cr ,mg/l
1	0,31	13	0,36
2	0,49	14	0,71
3	0,64	15	0,74
4	0,65	16	0,90
5	0,44	17	0,61
6	0,62	18	0,70
7	0,69	19	0,71
8	0,83	20	0,93
9	0,54	21	0,51
10	0,70	22	0,56
11	0,79	23	0,74
12	0,98	24	0,75

Keterangan :  
 • Hasil analisa tersebut diatas berdasarkan contoh yang kami terima  
 Surabaya 8 Desember 2016



**Dr. Ir. Susianto, DEA**  
 Kepala Laboratorium TAKI

Nomor Sampel	1	2	3	4	9	10	11	12
Sampel Awal	K0	K50	K75	K100	B0	B50	B75	B100
Sampel Akhir	13	14	15	16	21	22	23	24
Rektor	K0	K50	K75	K100	B0	B50	B75	B100

**Halaman ini sengaja dikosong**

## BIOGRAFI PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap Tesya Paramita Putri. Penulis lahir di Kota Mojokerto pada 19 Juni 1995. Penulis mengenyam pendidikan dasar pada tahun 2001-2007 di SDN Wadeng 3 Sidayu Gresik. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan pendidikan di SMP Negeri 1 Sidayu Gresik pada tahun 2007-2010. Pendidikan selanjutnya dijalani di SMA Negeri 1 Sooko Mojokerto pada tahun 2010-2013. Penulis kemudian melanjutkan studi di Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember dan terdaftar sebagai mahasiswa dengan NRP 3313100054 pada tahun 2013-2017.

Selama masa perkuliahan, penulis aktif menjadi pengurus Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan sebagai sekretaris II pada kepengurusan HMTL FTSP ITS 2014-2015 dan sebagai sekretaris I pada kepengurusan HMTL FTSP ITS 2015-2016. Penulis juga aktif menjadi pengurus Ikatan Mahasiswa Teknik Lingkungan Indonesia sebagai staf Departemen Dalam Negeri pada kepengurusan 2013-2014 dan menjadi sekretaris Departemen Dalam Negeri pada kepengurusan 2014-2015. Selama masa perkuliahan, penulis merupakan penerima beasiswa Bidik Misi. Penulis juga aktif dalam kegiatan kemahasiswaan dalam bidang keilmiahan, ditunjukkan dengan berhasilnya mendapatkan 2 pendanaan judul PKM oleh DIKTI yaitu PKM-K dan PKM-M. Penulis juga merupakan asisten laboratorium untuk mata kuliah Kimia Lingkungan II dan Teknik

Analisis Pencemaran Lingkungan. Penulis sangat menghargai adanya saran dan masukan yang membangun. Penulis dapat dihubungi melalui *email* dengan alamat [tesyaenviro@gmail.com](mailto:tesyaenviro@gmail.com).